

Université de Montréal

ÉVALUATION DU FLUVALINATE, DU COUMAPOUS, DU THYMOL  
ET DES ACIDES OXALIQUE ET FORMIQUE DANS LA LUTTE  
CONTRE LA VARROASE DE L'ABEILLE AU QUÉBEC

par

DAVID SAINTONGE

Département de sciences cliniques  
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de  
Maître ès sciences (M.Sc.)  
en sciences vétérinaires  
option sciences cliniques

Août, 2005

©David Saintonge, 2005





## AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

## NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé

ÉVALUATION DU FLUVALINATE, DU COUMAPOUS, DU THYMOL  
ET DES ACIDES OXALIQUE ET FORMIQUE DANS LA LUTTE  
CONTRE LA VARROOSE DE L'ABEILLE AU QUÉBEC

présenté par

DAVID SAINTONGE

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Alain Villeneuve,	président-rapporteur
Pascal Dubreuil,	directrice de recherche
Pierre Giovenazzo,	codirecteur de recherche
Laszlo DeRoth,	membre du jury

## SOMMAIRE

Cette étude présente les résultats de deux projets de recherche sur la lutte contre le parasite *Varroa destructor* Anderson & Trueman s'attaquant à l'abeille mellifère (*Apis mellifera* Linneaus) dans les ruchers du Québec. Durant l'hiver 2002-2003, le cheptel apicole du Québec a été réduit de moitié à cause de l'apparition d'une résistance de *V. destructor* à l'acaricide fluvalinate. Dans ce contexte, il devenait impératif de trouver rapidement des méthodes de luttés alternatives contre ce parasite. Les projets ont été réalisés chez deux apiculteurs professionnels de la Montérégie.

Le premier projet, réalisé entre le 23 juin et le 26 septembre 2003, visait à évaluer l'efficacité et l'innocuité d'un traitement réalisé en juillet avec les acides formique et oxalique, appliqués lors de la récolte du miel d'été. Pour ce projet, les deux apiculteurs ont fourni 45 ruches chacun pour un total de 90. Chez chacun d'eux, elles ont été séparées en trois ruchers de 15 colonies. Dans chacun de ces ruchers, un traitement à l'acide formique (35 mL à 65%) a été réalisé sur le premier tiers des ruches, le deuxième tiers a reçu un traitement à l'acide oxalique (100 mL à 4%) et les colonies restantes ont servi de témoins, recevant les mêmes manipulations mais sans traitement. Les paramètres mesurés étaient la production de miel, l'analyse de résidus dans le miel et l'évaluation des populations de *V. destructor* durant le projet et à l'automne suivant.

Le second projet visait à évaluer l'efficacité, l'innocuité de quatre agents de lutte différents, chacun couplé à un traitement à l'acide oxalique administré à différentes dates en fin d'automne et en début d'hiver. Pour ce projet, réalisé entre le 23 septembre 2003 et le 23 avril 2004, chacun des apiculteurs a fourni 96 ruches pour un total de 192. Chez chacun des apiculteurs, elles ont été divisées en quatre groupes de 24 ruches. En fin septembre, les ruches de chacun des groupes a reçu l'un des quatre traitements suivants : fluvalinate (2 bandes à 10%), coumaphos (2 bandes à 10%), acide formique (3 applications, 35 mL à 65%) et thymol (1 gauffre de 15 g). Chaque groupe de 24 ruches a ensuite été divisé en trois sous-groupes, afin de tester différentes dates d'application de l'acide

oxalique (100 mL à 4 %) comme traitement complémentaire. Le premier tiers des ruches a reçu un traitement à la mi-octobre, le second à la mi-novembre et le dernier tiers des ruches fut traité à la mi-décembre. Les paramètres mesurés étaient la survie des ruches à l'hivernage, le poids des ruches et l'évaluation des populations de *V. destructor* durant la période de traitement et au printemps suivant.

Le projet d'été a permis de montrer qu'un traitement utilisant un acide organique au mois de juillet était sécuritaire pour les abeilles et n'affectait pas la qualité du miel. Par contre, ces traitements n'ont pas réduit le nombre d'acariens dans les colonies à l'automne. D'autres essais seront réalisés en période estivale afin de vérifier si des dosages plus élevés pourraient permettre de diminuer la population de *V. destructor* en automne tout en conservant l'innocuité du miel.

Le projet d'automne a permis de faire ressortir que le fluvalinate avait perdu beaucoup de son efficacité à cause du phénomène de résistance. Il a aussi été démontré que le coumaphos était un produit très efficace pour tuer *V. destructor*, même lorsqu'il est utilisé seul. Cependant la résistance à ce produit a déjà été observée en Ontario et dans l'état du Maine, ce qui confirme que cet acaricide ne représente pas une solution à long terme. Les traitements à l'acide formique et au thymol ont donné des résultats similaires, démontrant une bonne efficacité lorsqu'ils sont couplés à un traitement d'acide oxalique réalisé en novembre ou décembre, alors qu'il n'y a plus de couvain dans les ruches. Aucun traitement n'a affecté les abeilles. Ce dernier projet a aussi permis de constater que lorsqu'une colonie présente une tombée naturelle de plus 50 acariens par jour en septembre, ses chances de survie sont réduites à moins de 50%, peu importe le traitement appliqué. Il a aussi été possible de conclure qu'un traitement peut être considéré comme efficace lorsqu'il permet de réduire la population totale de *V. destructor* à moins de 50 individus par colonie pour l'hivernage.

**Mots clés :** *Apis mellifera*, *Varroa destructor*, *Acarapis woodi*, acide oxalique, acide formique, thymol, fluvalinate, coumaphos.

## SUMMARY

This study presents the results of two research projects on the control of the honeybee (*Apis mellifera* Linneaus) parasite *Varroa destructor* (Anderson & Trueman), in Québec apiaries. During the winter of 2002-2003 the total number of Québec hives was reduced by half because of the resistance of *V. destructor* to fluvalinate, a widely used synthetic acaricide. In this context, it became imperative to rapidly find alternative methods to fight the mite infestation. The projects were carried out in the apiaries of two professional beekeepers in the Montérégie region of Québec.

The objective of the first project which was carried out between June 23rd and September 26th 2003, was to evaluate the efficacy, innocuity and security of using one treatment with oxalic acid, applied in July during the summer honey harvest. For this project, two beekeepers provided 45 hives each, for a total of 90. Each of the two beekeeper's hives was separated into three apiaries of 15 colonies. In each of the apiaries, one formic acid (35 mL at 65%) application was given to the first groupe of colonies, the second groupe received one oxalic acid treatment (100 mL at 4%) and the remaining colonies served as controls, receiving the same manipulations, but without treatment. The parameters measured were: honey production, analysis of residues in the honey, and the evaluation of *V. destructor* populations during the project as well as the following fall.

The objective of the second project was to evaluate the efficacy, innocuity and security of the use of four different control agents, each coupled to an oxalic acid treatment, administered at different dates in late fall and early winter. For this project, carried out between September 23rd 2003 and April 23rd 2004, each beekeeper provided 96 hives, for a total of 192. For each beekeeper, the hives were divided into four groups of 24 hives. At the end of September, the hives of each group received one of the four following treatments: fluvalinate (two strips at 10%), coumaphos (two strips at 10%), formic acid (three applications, 35 mL at 65%) and thymol (one 15 g wafer). Each group of 24 hives was then divided into three sub-groups, in order to test different oxalic acid (100 mL at 4%)

application dates, as a complementary treatment. The first subgroup received a treatment in mid-October, the second in mid-November and the third was treated in mid-December. The parameters measured were: survival of colonies during wintering, weight of hives, and *V. destructor* populations during the treatment period, and the following spring.

Analyse of the results of the summer project concluded that a treatment using an organic acid during July was safe to honeybees and did not affect honey quality. However, these treatments did not reduce the quantity of mites in the colonies during fall sampling. Other trials will be done during the summer period to verify if higher dosages could permit to reduce the population in fall, while conserving honey quality.

Analyse of the results of the fall project showed that fluvalinate had lost much of its efficacy, due to the resistance of the mite to this compound. It was also demonstrated that coumaphos was a very effective product to kill *V. destructor*, even when it was used alone. However, mite resistance to this product has already been observed in Ontario and in the State of Maine (USA). This confirms that this acaricide will not offer a long term solution. For their part, formic acid and thymol treatments gave similar results, both proving to be effective when they were coupled to an oxalic acid treatment in November or in December, when brood in the hives was absent. All these treatments proved to be safe to honeybees. This later project also demonstrated that when a bee colony had a natural drop of more than 50 mites per day in September, its survival chance was reduced to less than 50%, no matter which treatment was applied. It was also possible to conclude that a treatment can be considered effective when it permits to reduce the total population to less than 50 mites per colony at wintering.

**Keywords :** *Apis mellifera*, *Varroa destructor*, *Acarapis woodi*, oxalic acid, formic acid, thymol, fluvalinate, coumaphos.



# TABLE DES MATIÈRES

	page
<b>SOMMAIRE</b> .....	i
<b>SUMMARY</b> .....	iii
<b>TABLES DES MATIÈRES</b> .....	v
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	ix
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	x
<b>LISTE DE SIGLES ET ABBRÉVIATIONS</b> .....	xi
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	xii
<b>INTRODUCTION</b> .....	1
 <b>RECENSION DE LA LITTÉRATURE</b> .....	 2
 <b>1. Importance économique de l'apiculture</b> .....	 2
1.1 Situation canadienne.....	2
1.2 Situation québécoise.....	3
1.3 Problématique de la varroase au Québec .....	3
 <b>2. Biologie de l'abeille</b> .....	 4
2.1 Origine et histoire évolutive .....	4
2.2 Sous-espèces de <i>Apis mellifera</i> .....	5
2.3 Développement et nutrition .....	6
2.3.1 Cycle vital .....	6
2.3.2 Nutrition .....	9
2.3.3 Détermination des castes .....	9
2.4 Activité des ouvrières selon l'âge .....	10
 <b>3. <i>Varroa destructor</i></b> .....	 12
3.1 Variété génétique de <i>Varroa destructor</i> .....	12
3.2 Description morphologique .....	15
3.3 Reproduction .....	16
3.4 Préférence pour les cellules de faux-bourçons .....	20
3.5 Succès de reproduction et infertilité .....	20
3.6 Nombre de cycles de reproduction.....	22
3.7 Infestations multiples .....	22
3.8 Durée de la période post-operculation .....	23
3.9 Température du couvain .....	23
3.10 Taux d'humidité et reproduction .....	24
3.11 Taux d'infestation des cellules .....	24
3.12 Préférence pour les jeunes ouvrières nourrices .....	25
3.13 Site de nourrissage .....	25
3.14 Réponses olfactives et attraction du couvain .....	25
3.15 Effondrement de la colonie .....	26

3.16 Seuil économique .....	26
3.17 Effets sub-létaux.....	27
3.18 Vecteur de pathogènes .....	27
3.19 Mortalité hivernale .....	27
3.20 Effets sur les colonies d'abeilles sauvages .....	28
<b>4. Les méthodes de lutte .....</b>	<b>29</b>
4.1 Les acaricides synthétiques.....	29
4.1.1 Fluvalinate .....	29
4.1.2 Fluméthrine .....	32
4.1.3 Coumaphos .....	33
4.1.4 Amitraz .....	34
4.1.5 Autres acaricides chimiques .....	34
4.2 Les produits organiques .....	35
4.2.1 Les acides organiques .....	35
4.2.1.1 L'acide formique .....	35
4.2.1.2 L'acide oxalique .....	37
4.2.1.3 L'acide lactique .....	38
4.2.1.4 L'acide citrique .....	38
4.2.2 Les huiles essentielles .....	38
4.2.2.1 Le thymol .....	39
4.2.2.2 Autres huiles essentielles .....	40
4.3 Les méthodes biotechniques.....	40
4.3.1 Plateaux anti- <i>Varroa</i> .....	40
4.3.2 Retrait du couvain de mâles.....	41
4.3.3 Chaleur.....	41
4.3.4 Sélection génétique .....	41
4.4 Les champignons .....	41
4.5 Les antibiotiques .....	42
4.6 Autres méthodes .....	43
<b>5. Défenses comportementales .....</b>	<b>43</b>
5.1 Comportement hygiénique .....	43
5.2 Comportement de toilettage (ou d'épouillage) .....	46
<b>6. Dépistage et détermination du taux d'infestation .....</b>	<b>49</b>
6.1 Méthode avec bocal (roulement ou lavage) .....	49
6.2 Méthode d'examen du couvain .....	51
6.3 Méthode des cartons collants .....	51
6.4 Comparaison entre les méthodes .....	52
<b>7. But, objectifs et hypothèses des projets de recherche .....</b>	<b>53</b>

<b>PRÉSENTATION DE L'ARTICLE : Evaluation of fluvalinate, coumaphos, thymol, oxalic acid and formic acid against <i>Varroa destructor</i> in Eastern Canada</b> .....	<b>55</b>
Abstract .....	57
1. Introduction .....	58
2. Material and methods .....	61
2.1 Summer study .....	62
2.2 Fall study .....	63
3. Results .....	66
3.1 Summer study .....	66
3.1.1 Mite drop following the treatments .....	66
3.1.2 Comparison between treatments .....	66
3.1.3 Brood and bees .....	66
3.1.4 Honey production .....	67
3.1.5 Organic acids residues .....	67
3.2 Fall study .....	67
3.2.1 Oxalic acid method of application .....	67
3.2.2 Colony survival .....	67
3.2.3 Bee population .....	68
3.2.4 Mite drop during the treatment period .....	68
3.2.5 Mite drop in spring .....	69
3.2.6 Syrup intake and consumption .....	69
3.2.7 Other diseases .....	69
4. Discussion .....	71
4.1 Summer study .....	71
4.2 Fall study .....	74
Acknowledgements .....	76
References .....	80

<b>DISCUSSION GÉNÉRALE .....</b>	<b>95</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>103</b>
<b>SOURCES DOCUMENTAIRES .....</b>	<b>104</b>
 <b>ANNEXE : LES PATHOLOGIES DE L'ABEILLE.....</b>	 <b>xiv</b>
1. Virus .....	
1.1 Le couvain sacciforme .....	xiv
1.2 Virus de la paralysie chronique (maladie noire) .....	xv
1.3 Virus de la paralysie aiguë .....	xvi
1.4 Virus de la paralysie lente .....	xvi
1.5 Virus de l'abeille du Cachemire .....	xvii
1.6 Virus des ailes difformes (ou déformées) .....	xvii
1.7 Virus filamenteux de l'abeille .....	xviii
1.8 Virus des ailes opaques (ou nuageuses) .....	xviii
1.9 Autres virus .....	xix
2. Bactéries .....	xix
2.1 <i>Paenibacillus larvae</i> , la loque américaine .....	xix
2.2 <i>Melissococcus pluton</i> , la loque européenne .....	xxi
2.3 Autres bactéries .....	xxii
3. Protozoaires .....	xxii
3.1 <i>Nosema apis</i> .....	xxii
3.2 Autres protozoaires .....	xxiii
4. Champignons .....	xxiii
4.1 <i>Ascophaera apis</i> .....	xxiii
4.2 Aspergillose .....	xxiv
4.3 Autres champignons .....	xxiv
5. Insectes .....	xxv
5.1 Lépidoptères .....	xxv
5.1.1 <i>Galleria mellonella</i> , la grande fausse-teigne .....	xxv
5.1.2 <i>Achroia grisella</i> , la petite fausse-teigne .....	xxvi
5.2 Hyménoptères .....	xxvi
5.3 Coléoptères .....	xxvii
5.4 Autres insectes .....	xxvii
6. Anomalies et maladies non-infectieuses .....	xxviii
6.1 Dysenterie et sucres poisons.....	xxviii
7. Acariens (autres que <i>V. destructor</i> ) .....	xxix
7.1 <i>Acarapis woodi</i> .....	xxix
7.2 Autres espèces d' <i>Acarapis</i> .....	xxxi
7.3 <i>Tropilaelaps clareae</i> .....	xxxi
8. Sources documentaires .....	xxxii

## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau 1.** Résumé de l'évolution des connaissances sur la distinction entre les espèces et les haplotypes de *V. destructor* et leur provenance. .... 14

**Tableau 2.** Caractéristiques des différentes variétés de *V. destructor*..... 15

**Article de maîtrise « : Evaluation of fluvalinate, coumaphos, thymol, oxalic acid and formic acid against *Varroa destructor* in Eastern Canada »**

**Table 1.** Calendar of treatments ..... 87

**Table 2.** Colony survival, syrup intake and consumption, and fall and spring bee populations according to the four main treatments applied in September. .... 87

**Table 3.** Colony survival, syrup intake and consumption, and fall and spring bee populations according to the month of application of the OA treatment. .... 88

## LISTE DES FIGURES

	page
<b>Figure 1.</b> Durée et stades de développement pour les ouvrières, faux-bourçons et reines chez l'abeille mellifère ( <i>A. mellifera</i> ) .....	7
<b>Figure 2.</b> . Tâches accomplies par les ouvrières de <i>Apis mellifera</i> en fonction de leur âge .....	11
<b>Figure 3.</b> Développement quotidien de <i>Varroa destructor</i> dans le couvain de faux-bourçon et d'ouvrière. ....	17
<b><u>Article de maîtrise « : Evaluation of fluvalinate, coumaphos, thymol, oxalic acid and formic acid against <i>Varroa destructor</i> in Eastern Canada »</u></b>	
<b>Figure 1.</b> Daily mite drop during sampling periods of 3 days before and after the organic acid treatments for beekeepers A and B. ....	89
<b>Figure 2.</b> Total mite drop during a 4 day period following the coumaphos control treatment at mid-september for beekeepers A and B .....	90
<b>Figure 3.</b> Daily mite drop for each of the indicated sampling period for beekeepers A and B. ....	91
<b>Figure 4.</b> Daily natural mite drop in April 2004 before the coumaphos control treatment according to the date at which the colonies received the OA treatment. ....	92
<b>Figure 5.</b> Efficacy of the fall 2003 treatments measured by the total mite fall during 7 consecutive days following the coumaphos control treatment in April 2004. ....	93
<b>Figure 6.</b> Colony mortality (%) in April 2004 according to the natural daily mite fall in september 2003 prior to the 4 main treatments .....	94

## LISTE DES SIGLES ET DES ABBRÉVIATIONS

CM	coumaphos
AF (ou FA en anglais)	acide formique
FV	fluvalinate
AO (ou OA en anglais)	acide oxalique
mg	milligramme
kg	kilogramme
mL	millilitre
mm	millimètre
µm	micromètre

## REMERCIEMENTS

Un projet d'une telle envergure ne peut être réalisé sans l'aide d'une multitude de personnes que je tiens à remercier.

D'abord, mon directeur Pascal Dubreuil qui a décidé de me faire confiance la journée même où je l'ai rencontré. Il a toujours été d'une grande disponibilité et d'une compréhension exceptionnelle.

Ensuite, Pierre Giovenazzo, qui par sa passion pour la recherche en apiculture a su éveiller en moi le désir de comprendre plus en profondeur la problématique globale de la lutte contre les parasites de l'abeille. Alain Villeneuve qui a gentiment accepté de participer au projet. Guy Beauchamp qui a réalisé les analyses statistiques.

Les apiculteurs Yves Gauvin et François Dubreuil qui ont accepté de fournir les ruches pour la recherche et qui m'ont appris comment faire des manipulations dans une ruche sans trop se faire piquer! Je dois aussi beaucoup à leur famille : Phillippe Gauvin, David Dubreuil, Marc-André Dubreuil. Justin Rousselle et Nancy Rodrigue qui m'ont aidé avec les décomptes de *V. destructor* sur cartons collants.

Émile Houle du Centre de recherche en santé animale de Deschambault, pour ses connaissances et ses ressources inépuisables en apiculture, il a été d'un grand secours à plusieurs reprises.

Ma famille que j'aime de tout mon cœur et à qui je dois tout, René mon père, Marie ma sœur et plus particulièrement ma mère, Madeleine Chagnon, sans qui je n'aurais jamais participé à ce projet et qui a fourni temps et énergie pour m'aider avec la finalisation de ma rédaction.

Hélène Leblanc, qui a été une source d'inspiration et d'encouragement en m'accompagnant tout au long de ce périple; je te souhaite sincèrement de trouver le bonheur que tu mérites.

Mes amis qui ont cru en moi et m'ont toujours poussé à persévérer malgré les moments de découragements et de manque de motivation, soit Pascal, Annie, David-Alexandre, François et tous les autres. Je remercie plus particulièrement Maxime Frenière, Patrick Desnoyers et Laurent Favre-Réguillon qui ont subi leur baptême apicole grâce à moi en me donnant un coup de main bénévole avec les manipulations. Je suis honoré de partager mon existence avec vous tous.

La réalisation de ce projet a été rendue possible grâce au financement de l'Université de Montréal et de l'INSA (Institut national en santé animale).



## INTRODUCTION

Ce travail porte sur la lutte intégrée contre *Varroa destructor* Aderson et Trueman (autrefois *Varroa jacobsoni* Oudemans), un important parasite de l'abeille domestique (*Apis mellifera* Linneaus) dans les ruchers du Québec. La section qui suit traite de l'importance économique de l'apiculture et décrit la problématique qui a mené à la présente étude. Le travail se poursuit par une recension de la littérature qui synthétise les notions essentielles à la compréhension de la problématique. On y traite de la biologie de l'abeille domestique, de la description et de la biologie de *V. destructor*, ainsi que des conséquences de ce parasite sur l'abeille infectée. Ensuite, les diverses méthodes de lutte contre la varroase et les principaux modes de dépistage y sont décrits. L'article scientifique présenté à la suite rapporte les résultats des deux protocoles effectués dans le cadre de la recherche. Finalement une discussion générale fait la synthèse du travail. L'annexe traite des différentes maladies associées à la varroase.

## RECENSION DE LA LITTÉRATURE

### **1. Importance économique de l'apiculture**

L'apiculture est peut-être le volet le moins bien compris et le plus sous-estimé de l'industrie agro-alimentaire. Les retombées économiques reliées à l'apiculture sont immenses car la plupart des cultures maraîchères dépendent de la pollinisation par les insectes. Le nombre d'insectes pollinisateurs naturels étant en réduction constante, les agriculteurs doivent se tourner vers l'abeille domestique pour accomplir le travail. Au Canada, on estime à 500 millions de dollars annuellement les retombées économiques liées à l'activité de pollinisation (Statistique Canada, 1999).

#### **1.1 Situation canadienne**

La production de miel à elle seule représente aussi une industrie très importante. Entre 1997 et 2001, on estimait à 575 000 le nombre de ruches au pays. Le Canada est le cinquième plus grand producteur de miel au monde et exporte jusqu'à 33% de son miel vers les États-Unis (Statistique Canada, 1999). Depuis 1998, les apiculteurs canadiens récoltent en moyenne 37 000 tonnes métriques de miel, dont plus du tiers provient de l'Alberta. Entre les années 1999 et 2003, la valeur de la production annuelle de miel au Canada était en moyenne de 110 millions de dollars (Statistique Canada, 2004). Cette production est surtout concentrée dans les prairies où l'on trouve le plus grand nombre de colonies. L'Alberta, la Saskatchewan et le Manitoba produisent, à eux-seuls, plus de 75% du miel canadien (Statistique Canada, 2003).

Inversement, entre 1994 et 1996, le Canada a importé en moyenne 5 500 tonnes métriques de miel moins cher et de moindre qualité provenant surtout de la Chine. Les importations servent surtout aux industries qui utilisent le miel de qualité inférieure comme agent sucrant pour des produits tels que les beignes, les céréales, les gels pour la douche, etc. (Statistique Canada, 1999). La Chine est le premier producteur de miel au monde. Pour sa part, le Canada occupe une place de choix sur le marché mondial derrière les États-Unis, le Mexique et l'Argentine (Statistique Canada, 1999).

## 1.2 Situation québécoise

Entre les années 1998 et 2002, le nombre de ruches au Québec est demeuré relativement stable, à environ 31 000 ruches par année (Statistique Canada, 2003). On note cependant que durant ces dernières années, le nombre de producteurs n'a pas cessé de diminuer. Entre 1997 et 2001, on comptait une moyenne de 387 producteurs québécois (Statistique Canada, 2002) et déjà, en 2002, ce nombre était réduit à 220 (Statistique Canada, 2003). Ces chiffres importants indiquent qu'il y a moins de producteurs ayant un faible nombre de ruches d'une part et que, d'autre part, les gros producteurs augmentent leurs effectifs.

Entre 1998 et 2002, le Québec a produit en moyenne 1 600 tonnes métriques de miel par année, soit environ 5% de la production canadienne. La valeur de la production annuelle se situait à environ 5,5 millions de dollars (Statistique Canada, 2003). La location de ruches pour la pollinisation rapporte aux apiculteurs québécois, en moyenne, un peu plus d'un million de dollars par année. Les autres revenus, incluant la cire, la gelée royale, le pollen et la vente de reines, totalisent près de 5 000 000 dollars (Ministère de l'agriculture, des pêcheries et l'alimentation du Québec (MAPAQ), 2002).

## 1.3 Problématique de la varroase au Québec

En 2003, la situation décrite plus haut a basculé. Des mortalités d'abeille élevées furent observées à l'automne 2002 et au printemps 2003. Durant cette période le Québec a vu mourir environ 50% de ses colonies et on ne comptait plus que 190 producteurs dans la province (Statistique Canada, 2004); le nombre de colonies est passé de 31 000 à 15 800 (Statistique Canada, 2003). À la fin de la saison 2003, le nombre de colonies est revenu autour de 22 000 (Statistique Canada, 2004). Les autres provinces canadiennes ont aussi été touchées à cette période mais c'est le Québec qui a subi les plus grands dommages. Le parasite *Varroa destructor* et la mauvaise température au printemps 2003 ont été ciblés comme principaux responsables de cette hécatombe (Bulletin zoosanitaire RAIZO, 2003).

Suite à cet incident, le Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation du Québec (MAPAQ) et l'Union des producteurs agricoles (UPA) ainsi que La financière agricole du Québec, ont annoncé l'adoption de mesures importantes

visant à soutenir le secteur apicole. Des mesures de soutien financier pouvant atteindre 1,9 million de dollars, administrées par La financière agricole du Québec, ont été mises à la disposition des apiculteurs. De cette somme, une aide financière de 560 000 \$ a été versée par le MAPAQ aux entreprises admissibles pour soutenir la reconstitution du cheptel apicole détruit par la varroase. Afin de compléter cette reconstitution et d'aider les entreprises à rétablir leur fond de roulement, celles-ci ont pu avoir accès à un financement de La financière agricole, sans intérêt pendant deux ans. Par ailleurs, des projets majeurs de recherche ont été réalisés en partenariat avec la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal et le Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD) en vue d'établir une stratégie intégrée de lutte contre les parasites des abeilles. Le présent travail est d'ailleurs un des fruits de cet investissement.

## **2. Biologie de l'abeille**

Pour bien comprendre la relation intime qui unit *Varroa destructor* et son hôte, il est important de connaître certains détails de la biologie de l'abeille, notamment la reproduction. La présente section se concentre seulement sur les aspects jugés pertinents dans le cadre de ce travail, soit parce qu'ils sont en relation avec la biologie de *V. destructor* ou soit qu'ils ont des implications dans la lutte contre le parasite.

### **2.1 Origine et histoire évolutive**

On compte aujourd'hui 10 ou 11 familles d'abeilles, comptant environ 700 genres et 20 000 espèces. Les abeilles mellifères modernes (Apidae : Apini) sont toutes classifiées dans le même genre, *Apis*, qui inclut cinq espèces : l'abeille mellifère *A. mellifera*, les abeilles géantes *A. dorsata* et *A. laboriosa*, l'abeille asiatique *A. cerana*, et l'abeille naine *A. florea* (Winston, 1987).

Les espèces *A. cerana* et *A. mellifera* sont de taille moyenne (10-11 mm) et sont les seules à construire des colonies comprenant plusieurs rayons. Les colonies de *A. cerana* sont relativement petites avec 6 000-7 000 ouvrières, alors que les colonies de *A. mellifera* peuvent atteindre de très grandes tailles, jusqu'à 100 000 ouvrières et plus (Winston, 1987). Ces deux espèces sont si proches l'une de l'autre que l'on a longtemps pensé qu'il s'agissait de deux variétés de la même espèce. Toutefois, les travaux de

Ruttner et Maul (1983) ont démontré qu'il s'agissait bien de deux espèces distinctes. L'aire de distribution de *A. cerana* se limite encore aujourd'hui à l'Asie du Sud-est, tandis que les différentes sous-espèces de *A. mellifera* ont été répandues partout dans le monde pour la production de miel.

Le reste de ce travail traite principalement de *A. mellifera* et le terme « abeille mellifère » fera référence uniquement à cette espèce et à ses sous-espèces. Le terme « abeille asiatique » fera référence à *A. cerana*.

## 2.2 Sous-espèces de *Apis mellifera*

L'habitat naturel de *A. mellifera* s'étend dans toutes les régions comprises entre la pointe sud de l'Afrique et le nord de l'Europe. Avec une telle variété de conditions climatiques et de types d'habitats et de flore, il n'est pas surprenant de retrouver plusieurs sous-espèces d'abeilles mellifères, chacune avec ses caractéristiques distinctes, adaptées aux conditions et aux habitats des différentes régions (Louveaux, 1966). On peut les classer en trois grands groupes. Il y a d'abord les sous-espèces européennes, qui rassemblent les sous-espèces *A. m. mellifera* (abeille allemande, aussi appelée abeille noire), *A. m. lingustica* (abeille italienne), *A. m. carnica* (abeille carniolienne) et *A. m. caucasia* (abeille caucasienne). Deuxièmement, il y a les sous-espèces africaines, avec *A. m. intermissa* (abeille tunisienne), *A. m. lamarckii* (autrefois *A. m. fasciata*, abeille égyptienne), *A. m. scutellata* (abeille de l'Afrique de l'est), *A. m. adansonii* (abeilles de l'Afrique de l'ouest), *A. m. monticola* (abeille des montagnes), *A. m. capensis* (abeille du Cap) et quelques autres sous-espèces moins répandues et moins connues. En troisième lieu, on retrouve les sous-espèces orientales, des régions de la Turquie et de l'Iran, qui sont beaucoup moins bien connues, et parmi lesquelles on retrouve *A. m. syriaca* et *A. m. meda* (Winston, 1987).

Les abeilles ne sont pas indigènes aux Amériques du Nord, Centrale et du Sud, mais on y trouve plusieurs sous-espèces européennes et africaines, qui ont été introduites dans les derniers siècles. En Amérique du Sud, l'introduction en 1956 de l'abeille africaine *A. m. scutellata* a bouleversé l'apiculture. Ces abeilles se sont répandues dans pratiquement toutes les régions d'Amérique du Sud et d'Amérique Centrale et se sont hybridées avec les variétés locales apportant parfois des problèmes à cause de leur

comportement très agressif. On appelle maintenant ces dernières, les abeilles africanisées, pour ne pas les mélanger avec celles indigènes à l'Afrique. Cependant, elles semblent avoir conservé leurs caractéristiques morphologiques, comportementales et écologiques, et ne constituent pas une nouvelle espèce (Winston, 1987).

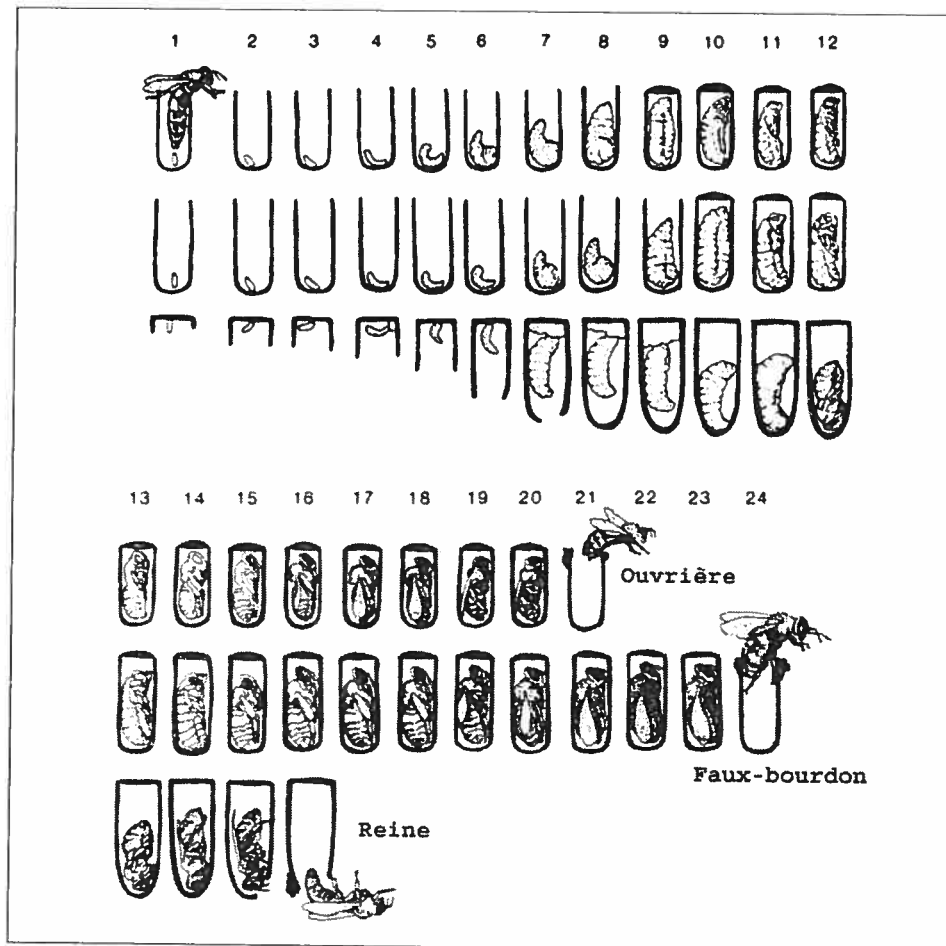
L'abeille la plus répandue au Québec est l'abeille italienne *A. m. linguistica*, qui est très docile et produit beaucoup de miel. Leurs colonies ont l'avantage de pouvoir hiverner avec une grande population d'ouvrières et de repartir en force au printemps après l'hivernage. On retrouve aussi quelques colonies d'abeilles caucasiennes (*A. m. caucasia*) et carnioliennes (*A. m. carnica*).

Historiquement, les premières abeilles importées au Québec ont été apportées par les colons français, et il s'agissait de l'abeille noire (ou allemande) *A. m. mellifera*. Elle aurait été remplacée par l'abeille italienne après la seconde guerre mondiale à cause de sa trop grande susceptibilité à l'infection par la loque américaine (Houle, 2005, communication personnelle).

## 2.3 Développement et nutrition

### 2.3.1 Cycle vital

Le développement des trois castes (mâle, ouvrière et reine) passe par quatre stades majeurs : l'oeuf, la larve, la nymphe et l'adulte. La reine pond des oeufs dans des cellules d'ouvrières ou de faux-bourçons (mâles). Les oeufs fertilisés peuvent se développer en ouvrière ou en reine, alors que les oeufs non fertilisés produisent des mâles par parthénogenèse (Winston, 1987).



**Figure 1.** Durée et stades de développement pour les ouvrières, faux-bourçons et reines chez l'abeille mellifère (*A. mellifera*). D'après Winston (1987).

### Oeuf

L'œuf de l'abeille est de couleur blanche et de forme cylindrique. Sa longueur (1,3-1,8 mm), son poids (0,12-0,22 mg) et la durée de son développement (48-144 heures) peuvent varier énormément, selon des facteurs génétiques et environnementaux. Généralement, le temps d'incubation des oeufs est d'environ 72 heures. Cette durée est un peu plus courte pour les sous-espèces d'origine tropicale et un peu plus longue pour les sous-espèces des régions tempérées (Winston, 1987).

### Larve

La larve d'abeille est blanche et ressemble à un ver dodu. Adaptée pour une croissance rapide, elle n'a aucun appendice inutile et est équipée d'un énorme système digestif. Son développement se fait en six mues et de la dernière émerge l'adulte. Durant

les quatre premières mues, qui durent environ 24 heures chacune, l'alvéole n'est pas operculée et la larve est nourrie avec de grandes quantités de nourriture laissée par les ouvrières nourrices. Cette période pré-operculation dure en moyenne 5,5 jours pour l'ouvrière, 4,6 jours pour la reine et 6,3 jours pour le faux-bourdon chez l'abeille européenne. Ensuite, la larve est scellée dans sa cellule par un opercule construit par les ouvrières (Winston, 1987).

### *Nymphe*

La phase nymphale est la dernière étape avant la dernière mue, de laquelle émergera un adulte. Cette étape dure environ 8-9 jours pour les ouvrières et les faux-bourdons et 4-5 jours pour les reines et se termine par la dernière mue vers l'adulte. La jeune abeille va ensuite perforer l'opercule pour pouvoir émerger (Winston, 1987).

La durée de développement total de l'œuf à l'adulte est d'environ 16 jours pour les reines, 21 jours pour les ouvrières et 24 jours pour les mâles (Fig. 1). Toutefois ces temps peuvent varier respectivement de 14 à 17 jours, 16 à 24 jours et 20 à 28 jours pour les trois castes. Beaucoup de cette variabilité peut être attribuée aux facteurs environnementaux comme la température et la nutrition. Une température juste en dessous de la température normale de 35°C dans le couvain peut retarder l'émergence de 5 jours. Les ouvrières et les reines des abeilles d'origine africaine ont un temps de développement plus court (15 jours) que les abeilles qui originent des régions tempérées (18,5 jours) (Fletcher, 1978; Kerr et coll., 1970). Les mâles se développent en 24 jours, chez les deux sous-espèces (Smith, 1960).

Ces différences dans le temps de développement, et particulièrement pour la période post-operculation, sont importantes dans le contexte de l'étude de la varroase car une différence de quelques heures de cette période de temps peut modifier le succès de reproduction du parasite (Büchler et Drescher, 1990).

### *Adulte*

L'abeille adulte complètera son développement dans les 8 à 10 jours suivant son émergence. La durée de vie des ouvrières est très variable et peut s'étendre de quelques jours à plusieurs mois, selon la saison. La disponibilité de la nourriture, la nature des



tâches accomplies et la sous-espèce à laquelle appartient une abeille sont d'autres facteurs importants pouvant affecter cette durée de vie. Dans les régions tempérées, les ouvrières vivent de 15 à 38 jours en été, de 30 à 60 jours en automne et en moyenne 140 jours en hiver (Winston, 1987). Des événements perturbateurs causant une diminution de la population adulte comme un essaimage, la prédation, la maladie ou les empoisonnements sont tous susceptibles de réduire la durée de vie (Winston et Fergusson, 1985; Winston et Katz, 1982).

Les faux-bourçons ont une durée de vie moyenne de 21 à 32 jours au printemps, alors que leur longévité peut atteindre 90 jours durant l'été et en automne. Quand vient l'hiver, les ouvrières rejettent la grande majorité des mâles à l'extérieur de la ruche et il y a peu ou pas de mâles qui survivent à l'hiver (Fukuda et Ohtani, 1977).

Les reines ont la plus longue durée de vie des trois castes et vivent généralement de 1 à 3 ans. On recommande d'ailleurs aux apiculteurs de changer de reine aux deux ans environ (Winston, 1987). Il y a des cas rapportés de reines vivant beaucoup plus longtemps et Bozina (1961) a rapporté le cas de quelques reines ayant vécu jusqu'à huit ans.

### **2.3.2 Nutrition**

Les besoins alimentaires et les modes d'alimentation des trois castes d'abeilles et des larves de différents stades sont assez variés. Cela dit, les matériaux de base pour l'élaboration des différents types de nourriture sont les mêmes, le nectar et le pollen. Ces deux produits floraux procurent tous les éléments nutritifs nécessaires pour la croissance des larves, la métamorphose et la vie adulte. De façon générale, le nectar fournit les hydrates de carbone sous forme de sucres, alors que le pollen fournit les protéines, les lipides, les vitamines et les minéraux (Winston, 1987).

### **2.3.3 Détermination des castes**

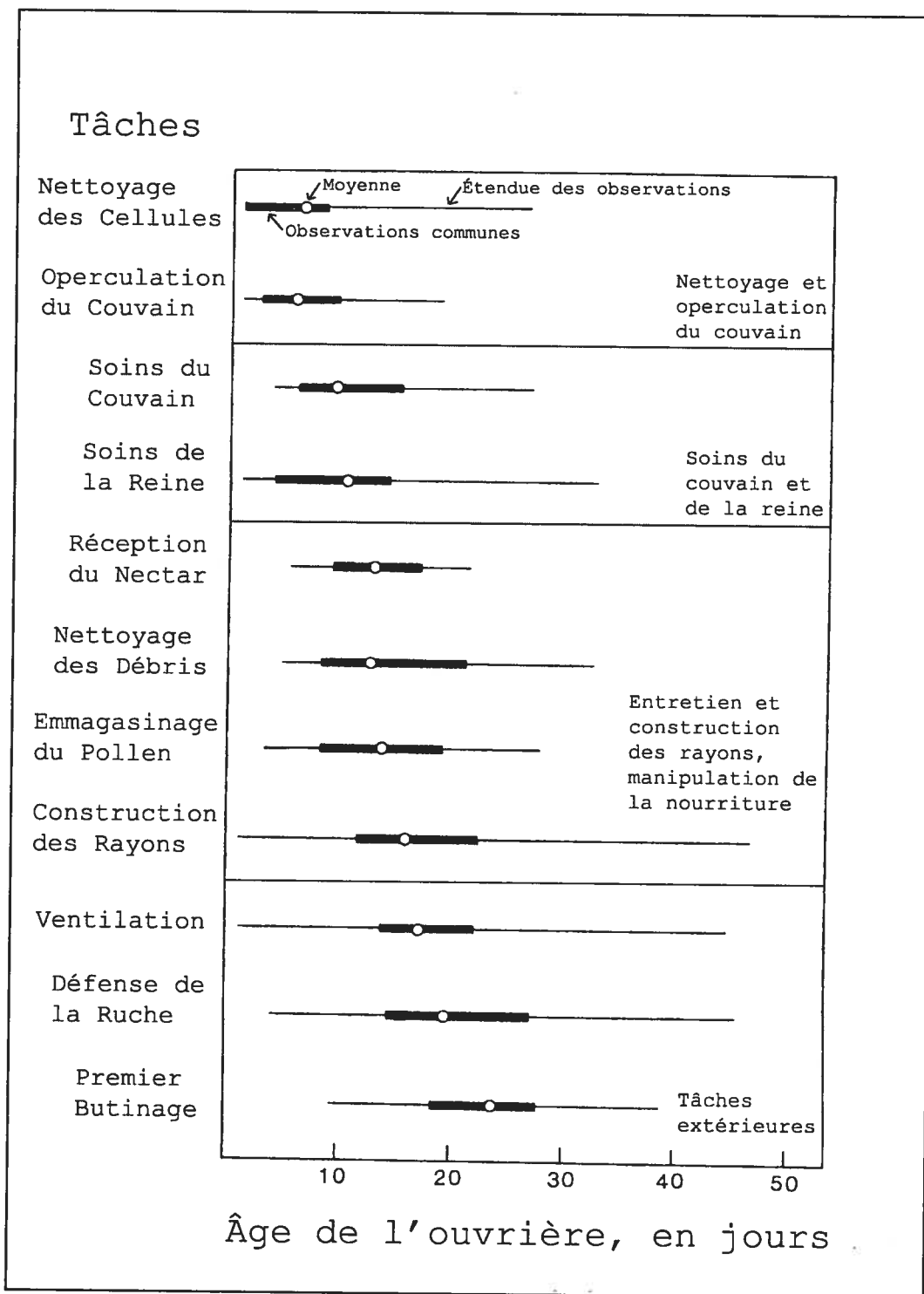
Le mécanisme par lequel les castes sont déterminées peut être expliqué de façon simple. Un oeuf non fertilisé donne un mâle et un oeuf fertilisé donne une femelle (ouvrière ou reine). Autrement dit, comme pour tous les hyménoptères, un oeuf haploïde donne un mâle et un oeuf diploïde une femelle. Donc lors de la ponte, si la reine ne

relâche pas de sperme, c'est un mâle. C'est en contrôlant le relâchement de sperme au moment de la ponte que la reine détermine le sexe de l'adulte à venir.

Un oeuf fertilisé a le potentiel de se développer en ouvrière ou en reine. Une larve élevée dans une cellule royale sera nourrie avec de la gelée royale et deviendra une reine (Winston, 1987).

## **2.4 Activité des ouvrières selon l'âge**

Au cours de leur vie, les ouvrières vont accomplir une grande variété de tâches à l'intérieur et à l'extérieur de la ruche. On peut diviser en quatre groupes généraux les tâches effectuées par les ouvrières : nettoyage et operculation du couvain; soins du couvain et de la reine; entretien et construction des rayons et manipulation de la nourriture; tâches à l'extérieur de la colonie (Figure 2) (Winston, 1987).



**Figure 2.** Tâches accomplies par les ouvrières de *Apis mellifera* en fonction de leur âge (selon les observations de plusieurs chercheurs). Traduit d'après Winston (1987).

### **3 *Varroa destructor*** Mesostigmata; Varroidae (autrefois *Varroa jacobsoni*)

L'abeille domestique est peut-être le premier invertébré dont on a étudié les maladies. Aristote (384-322 B.C.) décrivait des maladies des abeilles dans son ouvrage sur l'histoire des animaux. Comme la présence de *V. destructor* est souvent associée à celle d'autres maladies, il est important de connaître les autres ennemis de l'abeille pour comprendre la place que prend le parasite dans l'écologie de cet insecte. Les principaux agents pathogènes de l'abeille sont donc présentés en annexe. Ils comprennent des virus, des bactéries, des protozoaires, des champignons, des insectes, des acariens, ainsi que d'autres anomalies et maladies non-infectieuses. Dans cette section, les pathologies ayant un lien avec la varroase sont traitées plus en détails.

Presque partout sur la planète, les apiculteurs doivent aujourd'hui apprendre à travailler en contrôlant les populations de *V. destructor*, un acarien ectoparasite phorétique et obligé de l'abeille. Cet acarien fait aujourd'hui l'objet de plusieurs recherches partout dans le monde. Puisque le nouvel hôte *A. mellifera* et l'hôte d'origine *A. cerana* sont restés isolés géographiquement pendant longtemps, la relation d'équilibre entre l'abeille asiatique et *V. destructor* a dû s'établir après que les deux espèces d'abeilles aient été séparées géographiquement. Cette longue période d'isolation a eu comme conséquence que, malgré le fait que les deux espèces d'abeilles soient assez proches l'une de l'autre pour que le parasite soit en mesure de faire le changement d'hôte lorsque les deux espèces d'abeilles ont été remises en contact, *A. mellifera* ne possède pas les mécanismes ou les adaptations qui préviennent une infestation incontrôlée et la mort de la colonie (Martin, 1997).

#### **3.1 Variété génétique de *Varroa destructor***

*Varroa* a été identifiée pour la première fois à Java en 1904 par Oudemans, qui lui a donné le nom scientifique *Varroa jacobsoni*. Récemment des analyses morphologiques et génétiques réalisées par Anderson et Trueman (2000) ont démontré que l'acarien *Varroa jacobsoni* auquel la littérature plus ancienne (avant 2000) fait référence est en fait constitué d'au moins deux espèces. L'espèce qui a migré hors de l'Asie et jusqu'en

Amérique du nord a été renommée *Varroa destructor* par Anderson et Trueman (2000). Selon les chercheurs, la plupart des découvertes rapportées sur *V. jacobsoni* à l'extérieur de l'Asie peuvent en fait être attribuées à *V. destructor*. Tout au long de ce document, le nom *V. destructor* sera utilisé même si les travaux cités portant une date antérieure à 2000 utilisent le nom *V. jacobsoni*.

En réalité, la situation est encore plus compliquée car à l'intérieur de ces deux espèces on trouve un complexe d'au moins 18 variétés (ou haplotypes) différentes génétiquement. Parmi celles-ci seulement deux, de l'espèce *V. destructor*, seraient en mesure de parasiter l'abeille européenne *A. mellifera*, soit l'haplotype coréen ou russe, et l'haplotype thaïlandais ou japonais (Tableaux 1 et 2). Aussi, *V. jacobsoni* n'est pas en mesure de se reproduire dans les colonies de *A. mellifera* (Anderson, 2000; Anderson et Fuchs, 1998; Cobey, 2001).

**Tableau 1.** Résumé de l'évolution des connaissances sur la distinction entre les espèces et haplotypes de *V. destructor* et leur provenance.

1978 – Crane	<i>V. jacobsoni</i> en Europe provient de l'URSS.
1981 – de Jong et Gonclaves	<i>V. jacobsoni</i> au Brésil et Paraguay est d'origine japonaise.
1983 – Griffiths et coll.	Suggèrent l'existence possible de plus d'une espèce de <i>Varroa</i> .
1987 - Delfinado-Baker et Aggarwal	Découverte d'une nouvelle espèce <i>V. underwoodi</i> associée à l'abeille asiatique <i>A. cerana</i> au Népal.
1988 - Delfinado-Baker	Identification de trois biotypes de <i>V. jacobsoni</i> ; A) qui parasite l'abeille européenne, B) qui parasite le couvain de mâle de <i>A. cerana</i> sans causer de dommages et C) qui s'attaque aux abeilles africanisées en causant du dommage au couvain mais pas de mortalité de colonie.
1989 - Delfinado-Baker et Houck	<i>V. jacobsoni</i> aux États-Unis proviendrait de l'Amérique du Sud car les acariens du Brésil sont plus près morphologiquement que ceux provenant d'Europe et d'Asie.
1989 – Issa	Différences entre les patrons enzymatiques des <i>Varroa</i> de l'Allemagne et du Brésil.
1992 – Nation et coll.	<i>V. jacobsoni</i> de l'Italie et de la Floride sont similaires au niveau de la composition de leur cuticule.
1992 - Biasiolo	Similarités génétiques entre <i>V. jacobsoni</i> de 12 ruchers en Europe et un rucher en Chine.
1995 – Kraus et Hunt	Petites différences génétiques entre <i>Varroa</i> des États-Unis et de l'Allemagne, mais grandes différences entre les <i>Varroa</i> de Malaisie et ceux des États-Unis et Allemagne.
1995 – de Guzman et Delfinado-Baker	Découverte d'une nouvelle espèce <i>V. rindereri</i> associée à l'abeille <i>A. koschevnikovi</i> à Bornéo, Malaisie.
1997 – de Guzman et coll.	<i>V. jacobsoni</i> aux États-Unis est d'origine russe et <i>V. jacobsoni</i> du Brésil et Puerto-Rico est d'origine japonaise.
1998 – Anderson et Fuchs	Identification de deux génotypes de <i>V. jacobsoni</i> , un type allemand se reproduisant sur <i>A. mellifera</i> et un type de Papua, Nouvelle-Guinée (PNG), ne se reproduisant pas sur <i>A. mellifera</i> .
1999 – Boot et coll.	L'absence de reproduction de <i>V. jacobsoni</i> dans les cellules d'ouvrières de <i>A. destructor</i> et la présence de reproduction dans les cellules d'ouvrières de <i>A. mellifera</i> dépend du parasite et non de l'hôte.
1999 – de Guzman et Rinderer	Revue de littérature mentionnant l'existence de trois génotypes de <i>V. jacobsoni</i> ; le Russe, le Japonais et celui de Nouvelle Guinée.
1999 – de Guzman et coll.	Présence des génotypes Russe et Japonais en Amérique du Nord, suggérant plus d'une voie d'introduction du parasite. Génotype Russe seulement trouvé au Mexique.
2000 – Fuchs et coll.	Deux haplotypes distinct de <i>V. jacobsoni</i> au Vietnam. Le premier est associé à <i>A. cerana</i> et est spécifique à cette région. Le deuxième est associé à <i>A. mellifera</i> ; il cause des dommages mondialement et est le même qu'on a auparavant identifié comme génotype Coréen, Allemand ou Russe.
2000 – Anderson	Première démonstration que <i>Varroa jacobsoni</i> est en fait au moins deux espèces. Dix-huit haplotypes différents sont identifiés dont seulement deux parasitent <i>A. mellifera</i> . La nouvelle espèce qui n'est pas encore nommée comprend les deux <i>jacobsoni</i> ; celui qui a été identifié comme 1) génotype Coréen, Russe (ou R) et Allemand (ou GER) et celui qui a été identifié comme 2) génotype Japonais (ou J). L'autre espèce a auparavant été identifiée comme génotype de Papua Nouvelle-Guinée (PNG).
2000 – Anderson et Trueman	La nouvelle espèce est définitivement nommée <i>V. destructor</i> .

**Tableau 2.** Caractéristiques des différentes variétés de *V. destructor*. D'après Anderson (2000).

Haplotype	Synonymes	localisation sur <i>A. cerana</i>	localisation sur <i>A. mellifera</i>	Espèce
Corée	génotype Russe génotype R génotype GER	Corée	Europe, Moyen-Orient, Afrique du Sud, Asie, Amérique du Nord et du Sud	<i>V. destructor</i>
Japon/Thaïlande	génotype japonais génotype J	Japon et Thaïlande	Japon, Thaïlande, Amérique du Nord et Amérique du Sud	<i>V. destructor</i>
Java	génotype PNG	Indonésie (Java, Sulawesi, Timor), Papua Nouvelle-Guinée	Ne se reproduit pas sur <i>A. mellifera</i>	<i>V. jacobsoni</i>

En revoyant les informations des Tableaux 1 et 2, on peut clairement voir qu'il existe différentes variétés de *V. destructor* sur les continents d'Amérique du Nord et du Sud. Par conséquent, il faut être prudent lorsqu'on compare les résultats d'études en provenance de différentes régions, car on ne connaît pas bien les différences entre ces variétés. Comme il existe également plusieurs sous-espèces d'abeilles et plusieurs hybrides de ces sous-espèces, il faut être prudent dans l'interprétation des résultats provenant de différentes régions.

### 3.2 Description morphologique

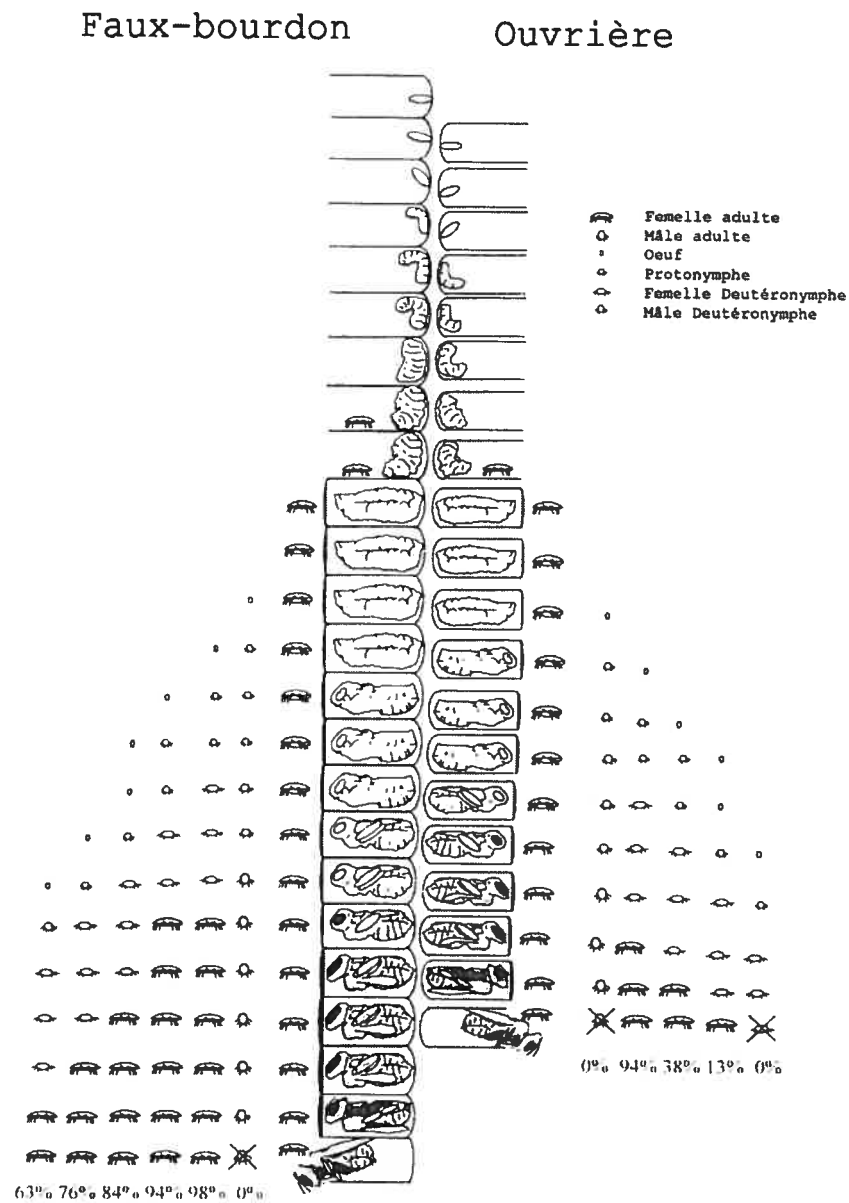
La femelle adulte de *V. destructor* est visible à l'œil nu et mesure environ 1 167 µm de longueur et 1 709 µm de largeur. Ces dimensions sont légèrement supérieures à celles de *V. jacobsoni* qui atteignent 1 063 µm de longueur et 1 506 µm de largeur (Anderson et Trueman, 2000). Le mâle est environ 4 fois plus petit que la femelle, si bien qu'on le voit difficilement sur les larves d'abeilles. Elle est bien adaptée au parasitisme et à la phorésie. Parmi les adaptations importantes lui permettant de survivre sur son hôte, on trouve des pièces buccales spécialisées permettant de percer la cuticule de l'abeille, une forme aplatie lui permettant de se glisser entre les segments de l'abeille, le pérित्रème qui permet à la femelle de respirer même lorsqu'elle se cache dans la nourriture laissée pour le couvain, des pattes munies de « ventouses » et des poils rigides sur le ventre rendant le délogement par les abeilles difficile ainsi qu'une cuticule épaisse lui

permettant d'éviter la perte d'eau trop rapide et dont la composition chimique ressemble à celle de l'abeille et lui sert de « camouflage chimique » (Martin, 1997).

### 3.3 Reproduction

Pour être en mesure de lutter efficacement contre le parasite *V. destructor*, il est essentiel de bien connaître son cycle de reproduction. Ce dernier suit le cycle de reproduction de son hôte, *A. mellifera*. La reproduction de *V. destructor* est hautement spécialisée et a fait l'objet de plusieurs recherches. Les travaux de Martin (1995) en Angleterre sur la reproduction de *V. destructor* ont été réalisés sur 908 cellules d'ouvrières et 2 671 cellules de mâles infestées et permettent d'avoir une bonne image de la situation (Figure 3).





**Figure 3.** Développement quotidien de *Varroa destructor* dans le couvain de faux-bourdon et d'ouvrière. La survie de la progéniture à l'émergence est donnée en pourcentage. D'après Martin (1997).

Un cycle débute avec une femelle nommée « fondatrice » qui entre dans la cellule de la larve juste avant qu'elle ne soit operculée. Pour des larves d'ouvrières, ceci correspond à une larve d'environ cinq jours, et jusqu'à sept jours pour une larve de faux-bourdon. La fondatrice doit choisir le moment propice pour entrer dans la cellule car si

elle y entre trop tôt elle pourrait être repérée et délogée par une ouvrière nourrice. Les travaux de différents chercheurs (Boot et coll., 1995; Goetz et Koeniger, 1993) ont montré que l'attractivité du couvain variait en fonction de la distance entre la larve et le rebord de la cellule. Cette distance servirait de repère pour estimer l'âge de la larve. Il ne s'agit probablement pas d'un repère visuel puisque l'acarien fait son choix alors qu'il est encore sur l'abeille adulte (Boot et coll., 1994). Peut-être s'agit-il d'une simple corrélation sans relation de cause à effet. Il est plus probable qu'il s'agisse d'un signal olfactif qui serait plus fort quand la distance est plus courte entre le rebord de la cellule et la larve.

Une fois entrée dans la cellule, la femelle fondatrice va se cacher dans la nourriture laissée pour la larve par une abeille nourrice avant l'operculation de la cellule. Après l'operculation, la larve s'étire et mange la nourriture. L'acarien saisi cette opportunité pour grimper sur la larve et se dégager de la nourriture en gelée. La larve va ensuite tisser son cocon contre la paroi de la cellule. Cette période dure environ 33 heures chez les ouvrières et 48 heures chez les faux-bourçons. Pendant la préparation du cocon, la femelle fondatrice doit rester sur la larve pour éviter d'être enfermée entre le cocon et la paroi de la cellule. Elle se nourrit fréquemment sur la larve. L'oogénèse doit commencer rapidement pour que le premier oeuf soit pondu le plus tôt possible. L'acarien dispose seulement de la période post-operculation pour sa reproduction (12 jours chez l'ouvrière et 14 jours chez le faux-bourçon) car aussitôt que la jeune abeille émerge, la reproduction est interrompue (Donzé et coll., 1998a).

Une fois le cocon complété, la larve cesse de bouger et se positionne sur le dos avec la tête vers l'opercule, occupant environ les deux tiers de la cellule. Elle laisse ainsi de l'espace de mouvement pour l'acarien dans la partie la plus élevée de la cellule. À cette période, la fondatrice commence à déposer ses fèces toujours au même endroit, habituellement près de la zone anale de l'abeille, sur la paroi latérale supérieure de la cellule. Les fèces de *V. destructor* sont blanches et facile à repérer, ce qui peut aider à la détection du parasite. La fondatrice devient alors peu active et passe la grande majorité du temps la tête en bas sur l'accumulation fécale, descendant sur la larve uniquement pour se nourrir (Donzé et coll., 1998a).

De 60 à 70 heures après l'operculation, la fondatrice se met à la recherche d'un site de ponte. Elle choisit généralement un endroit près de la partie antérieure de la larve, à proximité de l'opercule. Quand l'œuf sort de l'ouverture génitale de la fondatrice, elle le colle sur le plafond de la cellule au site de ponte choisi (Donzé et coll., 1998a).

Vient ensuite le moment de nymphose de l'abeille. Pendant cette période de mue, la prénymphe devient une nymphe, réduisant encore l'espace disponible pour le parasite. Pendant la mue, la nymphe en émergence bouge pendant environ 30 minutes, mettant le premier œuf en danger. Ce danger est réduit par la position du site de ponte au plafond de la cellule (Donzé et coll., 1998a).

La prochaine tâche de la fondatrice est de préparer le site de nourrissage sur la nymphe. Elle investit beaucoup d'énergie pour cette tâche qui est cruciale puisque les protonymphes femelles peuvent se nourrir par elles-mêmes mais doivent se rendre au site préparé pour elles, par leur mère. Entre les repas, les acariens retournent à l'accumulation fécale. Ce comportement permet de garder le site de nourrissage libre quand il n'est pas utilisé et procure un lieu de rendez-vous pour la copulation des adultes (Donzé et coll., 1998a).

Le premier œuf donne toujours naissance à un mâle et est pondu environ 60 à 70 heures après l'operculation. Les autres œufs, pondus à 30 heures d'intervalle, produisent des femelles. Le mâle atteint la maturité sexuelle lorsque la première femelle devient adulte. Il va s'accoupler avec elle jusqu'à l'arrivée de la deuxième femelle et il va alors changer de partenaire. Chaque femelle s'accouple aussi souvent que possible jusqu'à ce qu'une nouvelle arrive à l'accumulation fécale et ainsi de suite jusqu'à l'émergence de l'abeille adulte (Donzé et coll., 1996). La reproduction de *V. destructor* est donc limitée par la durée de la période post-operculation, soit 12 jours pour les ouvrières et 14 jours pour les faux-bourçons. Ceci explique pourquoi le nombre de descendants est plus grand dans les cellules de faux-bourçons (Figure 3) (Donzé et coll., 1998a). Le mâle ne peut se nourrir car ces chélicères sont transformées pour le transfert de sperme, il va donc mourir à l'émergence de la jeune abeille (Ritter, 1981).

### 3.4 Préférence pour les cellules de faux-bourçons

Les travaux de plusieurs auteurs ont permis de montrer que les acariens préfèrent infester les cellules de faux-bourçons à celles des ouvrières et des reines (Calderone et Kuenen, 2001; Santillan-Galicia et coll., 2002). Selon Fuchs (1990), dans les colonies d'*A. mellifera*, si on donne le choix aux acariens, les cellules de mâles sont infestées en moyenne 8,3 fois plus souvent, indépendamment du taux d'infestation de la colonie. La grosseur des cellules serait un facteur d'influence. En effet, les cellules de mâles, plus profondes et plus larges que les cellules d'ouvrières, seraient préférées par le parasite (Calderone et Kuenen, 2001). Chez l'hôte original *A. cerana*, *V. jacobsoni* se reproduit même presque exclusivement dans le couvain de mâle (Boot et coll., 1997) et son succès de reproduction y est très limité (Martin, 1997).

Selon Calderon et Kuenen (2001), il y aurait d'autres facteurs qui inciteraient la femelle fondatrice à choisir les cellules de faux-bourçons pour la reproduction : la larve est exposée plus longtemps à des opportunités de parasitisme; les ouvrières feraient moins d'efforts pour nettoyer les cellules de faux-bourçons; il y aurait aussi une attraction chimique dégagée exclusivement par les larves de mâles.

La hauteur du rebord de la cellule pourrait servir de repère pour reconnaître le couvain de mâle. Kuenen et Calderone (2000) ont fait des tests en surélevant artificiellement des cellules d'ouvrières. Ils ont trouvé que l'acarien infestait ces cellules environ six fois plus souvent que les cellules adjacentes.

### 3.5 Succès de reproduction et infertilité

Malgré la croissance rapide des populations de *V. destructor* dans les colonies d'*A. mellifera*, son succès de reproduction n'est pas très élevé, souvent à cause de problèmes d'infertilité de la femelle fondatrice. Les causes d'infertilité sont multiples. Dans certains cas la femelle ne pond pas du tout, parfois elle pond des oeufs non viables et d'autres fois elle ne pond que des oeufs mâles (Martin et coll., 1997). La compréhension des mécanismes qui influencent le succès de reproduction du parasite permet d'exploiter de nouvelles avenues dans la lutte biologique contre celui-ci.

Comme on le sait, le premier oeuf pondu par la femelle produit un mâle. Si ce mâle meurt avant d'avoir pu se reproduire avec ses sœurs, celles-ci demeureront non

fertilisées durant toute leur vie. Ces femelles non fertilisées vont tenter de se reproduire, mais elles ne seront en mesure de pondre que des oeufs mâles et ne donneront jamais de descendance viable. La proportion de ces femelles est assez élevée car la mort prématurée du mâle se produit dans environ 10 à 25% des cas (Martin et coll., 1997; Ruijter, 1987). Ces femelles vont pondre en moyenne 2 oeufs mâles par tentative de reproduction (Ruijter, 1987).

Selon Martin et coll. (1997), qui ont revu les travaux de plus de 30 chercheurs sur le sujet, la proportion de femelles n'étant pas en mesure de se reproduire est assez constante en Europe et se situe habituellement entre 10 et 20%, ce qui correspond à peu près à la quantité de mâles morts prématurément. Cette proportion augmente drastiquement dans les régions où l'on retrouve l'abeille africanisée. En effet, chez cette dernière, le taux de non-reproduction dépasse souvent 50% dans les cellules d'ouvrière et il se situe aux alentours de 15 à 20% dans les cellules de faux-bourdon. Malheureusement, les détails concernant la proportion de mâles morts prématurément ne sont pas connus pour ces études sur l'abeille africanisée. Toujours selon Martin et coll. (1997), on peut supposer que la mort prématurée du mâle expliquerait le premier 10 à 20% de non-reproduction, mais le reste serait expliqué par le comportement hygiénique de cette variété d'abeilles.

Le haut taux de mortalité des mâles serait dû à des problèmes d'ordre physique. Des exemples seraient l'écrasement de l'œuf par le mouvement de la nymphe d'abeille durant la nymphose ou encore l'incapacité du mâle à trouver le site de nourrissage établi par la fondatrice sur la nymphe en développement (Donzé et Guérin, 1994). Par ailleurs, le taux d'infertilité de *V. destructor* ne serait pas influencé par le temps passé sur l'abeille adulte (Boot et coll., 1995; Ruijter, 1987).

Il existe plusieurs façons de comparer le succès de reproduction du parasite mais il semble que la meilleure façon est de comptabiliser le nombre de femelles viables, produites par femelle entrée dans la cellule d'ouvrière. Appelée « taux effectif de reproduction », ce taux est de 0,64, 0,73 et 1,01 au Brésil, au Mexique et en Angleterre respectivement (Corrêa-Marques et coll., 2003). Si on compare ces données avec le nombre d'œufs produits pour ces mêmes régions, on obtient respectivement 4,05, 4,38 et 4,00. On constate à première vue que la première mesure nous donne une meilleure

information (Corrêa-Marques et coll., 2003). Ces chiffres sont en accord avec ceux de Boot et coll. (1995) qui rapportent 4,0 à 4,4 individus produits par femelle fondatrice, ce qui équivaut à 1,2 ou 1,3 femelles viables atteignant la maturité.

### 3.6 Nombre de cycles de reproduction

Avec un taux de reproduction aussi bas, *V. destructor* ne devrait normalement pas augmenter sa population aussi rapidement qu'elle ne le fait chez *A. mellifera*. Pour expliquer une telle augmentation de la population, Martin et Kemp (1997) ont calculé qu'une femelle doit effectuer en moyenne 2 à 3 cycles de reproduction. Grâce à des manipulations artificielles, Ruijter (1987) a trouvé qu'une femelle pouvait compléter jusqu'à 7 cycles de reproduction et produire un total de 30 oeufs.

### 3.7 Infestations multiples

Lorsque le niveau d'infestation d'une ruche devient élevé, on peut trouver plusieurs femelles fondatrices dans une même alvéole. Qu'advient-il alors du taux de reproduction de ces femelles?

Plus on augmente le nombre de femelles fondatrices entrant dans une cellule, plus le nombre de femelles viables produites par femelle fondatrice diminue, et ceci, autant dans les alvéoles de mâles que d'ouvrières (Donzé et coll., 1996; Eguaras et coll., 1994; Fuchs et Langenbach, 1989; Martin, 1995). Il semblerait qu'on voit diminuer le nombre de descendants produits par femelle fondatrice plutôt que de voir augmenter le nombre de femelle fondatrice ne produisant pas de descendance (Fuchs et Langenbach, 1989). Ceci a pour effet de ramener le ratio mâle-femelle en faveur des femelles vers un équilibre entre le deux sexes (Eguaras et coll., 1994; Fuchs et Langenbach, 1989).

Quand le nombre de descendants est élevé dans une cellule, la principale cause de mortalité pourrait être la compétition au site de nourrissage (Martin, 1995). En conditions naturelles, le nombre maximum de descendants observés est de 16 dans les cellules de faux-bourçons et 8 dans les cellules d'ouvrières. La distribution des cellules avec infestations multiples semble être au hasard, peu importe le type de cellule, mâle ou femelle (Martin, 1995). Autre fait intéressant, la quantité de spermatozoïdes contenue dans les femelles augmente avec le nombre de copulations, une indication qu'il y aurait

un mélange de sperme dans les cellules contenant plusieurs fondatrices. Aussi, une femelle aurait plus de chance de s'accoupler, puisque le nombre de mâles disponibles est plus élevé (Donzé et coll., 1996). La taille des cellules d'ouvrières (qui peut varier selon la sous-espèce) influence le taux effectif de reproduction. Des cellules plus grandes permettent d'augmenter le nombre de femelles viables produites par femelle fondatrice (Message et Goncalves, 1995).

### 3.8 Durée de la période post-operculation

Comme *V. destructor* ne peut se reproduire que durant la période post-operculation du couvain et qu'au moment de l'émergence de l'abeille on trouve plusieurs individus non matures, on peut dire que la durée de cette période influence le taux effectif de reproduction du parasite. Les travaux de Büchler et Drescher (1990) sur 112 colonies et 22 lignées d'abeilles mellifères européennes ont permis de confirmer ce fait et ont permis de vérifier que différentes lignées d'abeilles avaient différentes durées post-operculation. Ils ont trouvé des différences allant jusqu'à 9 heures entre différentes lignées et jusqu'à 19 heures entre différentes colonies. De plus, on sait que la durée post-operculation est un trait qui est transmis génétiquement (Bienefeld, 1996; Büchler et Drescher, 1990; Le Conte et coll., 1994). À l'aide d'une régression linéaire, Büchler et Drescher (1990) ont prédit qu'une réduction d'une heure de la durée post-operculation pouvait entraîner une diminution de 8,7% de l'infestation après 18 mois.

On sait aussi qu'une réduction de la période post-operculation est en partie compensée par une augmentation de la période pré-operculation (Bienefeld, 1996). La sélection pour des lignées d'abeilles avec une période post-operculation plus courte semble donc offrir une avenue intéressante pour la sélection d'abeilles résistantes.

### 3.9 Température du couvain

Afin de déterminer si le succès de reproduction du parasite variait en fonction de la température, Bienefeld et coll. (1995) ont placé trois cadres de couvain prêt à être operculé dans différentes parties de la ruche et ont mesuré les températures à ces endroits. Un cadre fut placé dans le centre de la chambre à couvain (A), un autre fut placé dans le côté de la chambre à couvain (B) et un troisième fut placé dans la hausse à miel (C), au-

dessus de la chambre à couvain. Les températures étaient différentes au trois endroits (A : 33,1°C; B : 29,2°C; C : 33,9°C) tout comme le taux d'infestation (A : 35,6; B : 32,1; C : 51,6%). Malgré le fait que le pourcentage de femelles incapables de se reproduire fut semblable, les nombres de descendants matures (A : 0,71; B : 0,36; C : 0,27) et immatures (A : 1,39; B : 2,05; C : 1,25) étaient significativement différents et corrélés à la température.

D'autre part, dans une autre étude effectuée par Rosenkranz et Engels (1994), il a été démontré que la différence dans la proportion de femelles infertiles trouvées dans le couvain des abeilles africanisées (40%) et européennes (10 à 20%) n'était pas reliée à la température ambiante.

### 3.10 Taux d'humidité et reproduction

Il a été démontré que le taux d'humidité peut faire varier le succès de reproduction de *V. destructor*. Selon Kraus et Velthuis (1997), 53% des femelles produisent une descendance à un taux d'humidité de 59 à 68% alors qu'un taux d'humidité augmenté artificiellement à 79 à 85% réduit cette proportion à seulement 2%.

### 3.11 Taux d'infestation des cellules

Le taux d'infestation du couvain par *V. destructor*, c'est-à-dire le nombre de cellules infestées par unité de temps, est affecté par plusieurs paramètres. Les travaux de Boot et coll. (1994) ont montré que le taux d'infestation augmente en fonction du nombre de cellules disponibles et diminue en fonction du nombre d'abeilles. Cela s'explique par le fait qu'une abeille infestée doit s'approcher d'une cellule prête à être infestée pour que le parasite puisse y entrer. Si le nombre de cellules disponibles augmente, cela augmente la probabilité de cette rencontre et si le nombre d'abeilles est plus grand pour un même nombre de cellules disponibles, cela réduit la probabilité qu'une telle rencontre se produise.

La femelle de *V. destructor* n'a pas besoin de se nourrir sur une abeille adulte avant d'être en mesure de se reproduire (Ruijter, 1987) et plus vite elle entre dans une cellule, plus le succès de l'espèce est augmenté. Certains individus adhèrent pourtant très



longtemps à l'abeille adulte, alors que d'autres réinfestent rapidement une nouvelle cellule (Boot et coll., 1993). Il a été suggéré que les individus n'ayant pas atteint la maturité complète avant l'émergence résident plus longtemps sur les abeilles (Moosbeckhofer et coll., 1988). Cependant, d'autres restent plusieurs semaines sur une abeille après son émergence (Boot et coll., 1993), ce qui est plus long qu'un cycle de reproduction.

### **3.12 Préférence pour jeunes ouvrières nourrices**

Les travaux de plusieurs chercheurs ont pu montrer la préférence de *V. destructor* pour les jeunes abeilles nourrices en comparaison avec des butineuses plus âgées (LeDoux et coll., 2000; Kraus, 1993; 1994; Kraus et coll., 1986; Kuenen et Calderone, 1997; Rosenkranz, 1993). Ceci est tout à fait compréhensible, puisque les nourrices travaillent près du couvain et les préférer comme hôte augmente les chances pour la femelle fondatrice de trouver une cellule prête à être operculée (Boot et coll., 1994).

### **3.13 Site de nourrissage**

Bowen-Walker et coll. (1997) ont trouvé que les *V. destructor* était le plus souvent trouvées entre les 3<sup>èmes</sup> et 4<sup>èmes</sup> sclérites sur le thorax des abeilles. Il semblerait aussi que le côté gauche soit préféré. Selon la position anatomique de certaines glandes de l'abeille, ceci permettrait à l'acarien d'avoir accès à une nourriture plus riche en nutriments. Kraus et coll. (1986) ont comparé le positionnement de *V. destructor* sur les abeilles butineuses et les nourricières; ils ont trouvé que l'acarien se localise plus souvent sous les sclérites abdominales chez les premières et entre le thorax et l'abdomen chez les secondes.

### **3.14 Réponses olfactives et attraction du couvain**

Plusieurs chercheurs ont tenté de comprendre les mécanismes qui régissent l'invasion des cellules par la femelle fondatrice. La compréhension de cet aspect de la vie du parasite offre de nouvelles voies de contrôle des populations.

Des expériences utilisant différents type d'olfactomètres ont montré que *V. destructor* est attirée par les odeurs de larves d'ouvrières et de faux-bourçons (Calderone et Lin, 2001; Kuenen et Calderone, 1998; Le Conte et coll., 1989) ainsi que des odeurs de cocons (Calderone et Lin, 2001; Donzé et coll., 1998b) ou de nourriture pour les larves (Nazzi et coll., 2001). Le parasite n'aurait cependant pas de préférence pour les odeurs d'ouvrières ou de faux-bourçons en laboratoire (Calderone et Lin, 2001) et les odeurs dégagées par la reine seraient moins attractives pour lui que celles dégagées par les ouvrières et les faux-bourçons (Trouiller et coll., 1994). Aussi, le couvain des abeilles sélectionnées génétiquement pour la résistance serait moins attractif que celui des abeilles non sélectionnées (De Guzman et coll., 1995), malgré que certains chercheurs n'aient pas réussi à mesurer de préférence pour différents génotypes de larves (Bienefeld et coll., 1998).

### 3.15 Effondrement de la colonie

Une infestation par *V. destructor* dans une colonie d'*A. mellifera* mène généralement à la mort de la colonie en 3 à 5 ans si aucun traitement n'est prodigué (Martin et coll., 1998). Le mécanisme exact par lequel la colonie d'abeilles finit par s'effondrer est mal compris. Certaines colonies semblent tolérer un niveau d'infestation assez élevé alors que d'autres s'effondrent plus rapidement. Quand la colonie s'effondre, il y a une réduction très rapide de la population et on ne trouve pas d'abeilles mortes dans la colonie (Martin, 1997). Un facteur pouvant expliquer la perte d'abeilles est la présence d'un groupe de virus que l'on soupçonne être activés par la présence de *V. destructor* et qui seraient transmis par cette dernière. Cependant il a été montré que ce ne sont pas toutes les abeilles dans les colonies mortes de la varroase qui sont infectées par des virus (Hung et coll., 1996). Il nous manque apparemment plusieurs données pour bien comprendre le phénomène.

### 3.16 Seuil économique

Selon Delaplane et Hood (1999), le seuil économique pour l'infestation par *V. destructor* se situerait aux alentours de 3 000 à 4 000 acariens dans une colonie de 25 000

à 30 000 abeilles, correspondant à une infestation de  $\pm 12\%$  des abeilles. Au-delà de cette limite, l'entretien de la colonie ne serait plus rentable pour l'apiculteur.

### 3.17 Effets sub-létaux

Les effets de *V. destructor* sur la ruche sont nombreux et portent atteinte à différents aspects de la santé des abeilles. Avant que l'infestation ne devienne trop importante, on peut déjà observer des effets néfastes. Les abeilles infestées par plusieurs acariens durant leur métamorphose montrent des signes d'affaiblissement et ont une durée de vie plus courte que la normale (Boecking et Spivak, 1999).

Les effets sur les faux-bourçons ont été étudiés par Duay et coll. (2003) qui ont montré qu'une puppe de faux-bourçon ayant été parasitée, même par un seul acarien, avait un poids significativement réduit à l'éclosion et qu'une puppe ayant été parasitée par plus d'une fondatrice a, en plus, une espérance de vie réduite. De plus, les mâles parasités par plus d'une fondatrice ont aussi une endurance de vol réduite (Duay et coll., 2002), ce qui peut avoir un effet sur la reproduction lors du vol d'accouplement. On trouve également un effet sur la production de sperme. Duay et coll. (2002) ont trouvé que les faux-bourçons parasités par un ou deux acariens produisaient respectivement 24 et 45% moins de sperme.

### 3.18 Vecteur de pathogènes

Il est maintenant reconnu que *V. destructor* peut être porteuse de certaines maladies de l'abeille, notamment plusieurs formes de virus. Les effets du parasitisme comme la perte de poids et la diminution de la concentration en protéines habituellement attribués directement à l'effet du parasitisme seraient plutôt des effets des pathogènes dont le parasite serait un vecteur (Bowen-Walker et coll., 1999; Bowen-Walker & Gunn, 2001; Martin et coll., 1998).

### 3.19 Mortalité hivernale

La mortalité des parasites en relation avec la mortalité des abeilles durant l'hiver (ou une période sans couvain) a été étudiée. Une première étude de Korpela et coll. (1992) rapporte une mortalité de 39,8% de la population de *V. destructor* durant l'hiver

en Finlande. Cette étude ne tenait pas compte des acariens mourant sur des abeilles qui quittent la ruche durant l'hiver puisque les auteurs ont utilisé la méthode de la tombée naturelle pour évaluer les populations de *V. destructor*.

D'autres chercheurs ont étudié l'évolution des populations de *V. destructor* durant l'hiver en Angleterre et ont suggéré que le parasite avait un taux de mortalité hivernale plus bas que celui de l'abeille et qu'il avait la capacité de migrer d'une abeille mourante ou morte vers une abeille saine. Cela résulterait en une concentration progressive du taux d'infestation des colonies (Bowen-Walker et coll., 1997; Bowen-Walker et Gunn, 1998). Il est à noter que cette conclusion a été tirée à partir de l'étude d'une seule colonie.

En contradiction avec ces résultats, Fries et Perez-Escala (2001) ont fait une étude plus approfondie avec 20 ruches et ont trouvé que la conclusion des études mentionnées ci-haut est erronée. Selon leurs résultats, obtenus en Suisse, il n'y a pas de raison de croire à une augmentation du niveau d'infestation au cours de l'hiver. L'étude a été faite sur un plus grand nombre de ruches et tenait compte des abeilles mortes à l'extérieur de la ruche. Ces résultats suggèrent que la mortalité hivernale des acariens et celle des abeilles sont probablement très similaires.

### 3.20 Effets sur les colonies d'abeilles sauvages

Au Québec, les essaims d'abeilles quittant les ruches commerciales ont très peu de chance de survivre à l'hiver rigoureux qui y sévit. Par contre, dans le sud des États-Unis, ces essaims peuvent s'établir dans la nature et former de nouvelles colonies qui peuvent survivre plusieurs années. En Californie, l'abeille mellifère a été introduite aux alentours de l'année 1850. Dans cette région, les abeilles mellifères sauvages (qui sont des descendantes des abeilles introduites) sont d'importants pollinisateurs pour l'agriculture, leur population dépassant souvent les populations des colonies d'élevage (Chang et Hopingarnier, 1991). Fait intéressant, ces grandes populations sauvages ne se retrouvent pas en Europe, terre d'origine de l'abeille mellifère (Ruttner, 1975).

Au début des années 1990, Kraus et Page (1995) ont étudié les effets de l'infestation par *V. destructor* dans les populations d'abeilles sauvages de la Californie. En 1990, ils ont observé 208 colonies sauvages, dont 124 ont été à nouveau observées en 1993. Aucune des 46 000 abeilles observées en 1990 n'était infestée alors qu'en 1993, le

nombre de colonies avait été réduit et les taux d'infestation par *V. destructor* étaient très élevés dans les régions où il y avait de l'apiculture commerciale. Les chercheurs ont conclu que le parasite avait eu un effet dévastateur sur les colonies d'abeilles mellifères sauvages de la Californie.

## **4. Les méthodes de lutte**

Les agents de lutte contre *V. destructor* sont nombreux et peuvent être classés en trois grandes catégories. Une première catégorie inclut les acaricides (insecticides) synthétiques comme le fluvalinate et le coumaphos. Dans une deuxième catégorie, il y a les produits organiques comme les acides organiques et les huiles essentielles. Troisièmement, on peut regrouper les méthodes biotechniques qui sont un ensemble de manipulations faites par les apiculteurs ou des modifications apportées à la ruche qui permettent de ralentir la croissance des populations d'acariens.

### **4.1 Les acaricides synthétiques**

#### **4.1.1 Fluvalinate (Apistan<sup>®</sup>, Wellmark International, Schaumburg, IL, USA)**

Le fluvalinate, qui fait partie de la famille chimique des pyréthrinoides de synthèse, est probablement le produit le mieux connu dans la lutte contre *V. destructor*. Il est surtout connu sous la marque de commerce Apistan<sup>®</sup>. Ce produit est disponible sous forme de bandes de polychlorure de vinyle (PVC), contenant 10% de fluvalinate, que l'on insère entre les rayons de la ruche. L'Apistan<sup>®</sup> est homologué au Canada depuis les années 1980. Il a été utilisé avec grand succès pendant environ une dizaine d'années dans plusieurs régions du monde mais, malheureusement, *V. destructor* a développé une résistance au produit partout où il a été utilisé comme seul agent de lutte. Au Québec, les premiers signes de résistance seraient apparus en 2002 (Houle, 2005, communication personnelle).

Le phénomène de résistance, rencontré là où les pyréthrinoides sont utilisés depuis longtemps, est bien documenté (Colin et coll., 1997; Elzen et coll., 1998; 1999b;

Faucon et coll., 1995; 1996; Lodesani, 1995; Milani, 1999; Watkins, 1996). La résistance est apparue surtout à cause du manque de produits alternatifs, mais elle a aussi été accélérée à cause d'une mauvaise utilisation par certains apiculteurs qui ont voulu épargner de l'argent en réutilisant des bandes usagées ou en utilisant des bandes modifiées (Bach, 1995). Certains apiculteurs ont aussi utilisé des préparations maison de tau-fluvalinate dont les concentrations et la vitesse de relâchement n'est pas bien contrôlée. Comme les apiculteurs sont naturellement portés vers l'expérimentation, certains ont aussi utilisé d'autres produits à base de pyréthrinoïdes comme Klartan<sup>®</sup> et Maverick<sup>®</sup>, des produits utilisés en agriculture dont le dosage pour l'utilisation en apiculture n'est pas standardisé (Watkins, 1996). Il va sans dire que ces pratiques ne sont pas recommandées puisqu'elles peuvent favoriser l'apparition de résistance et contaminer les produits de la ruche. Le niveau de résistance au fluvalinate peut varier de façon dramatique d'un rucher à un autre dans une région donnée (Colin et coll., 1997; Floris et coll., 2001a; Lodesani et coll., 1995). La résistance semble varier selon les pratiques antérieures de l'apiculteur (Floris et coll., 2001a).

Les premiers cas de résistance ont été découverts en Italie, en 1992, suite à de grandes pertes de ruches traitées avec des pyréthrinoïdes (Lodesani et coll., 1995). Ces résultats ont été confirmés plus tard par Faucon et coll. (1995) qui ont rapporté une diminution importante de l'efficacité de l'Apistan<sup>®</sup> dès 1994, en Italie (29,7%), alors que le produit était encore efficace en France (environ 100%). Colin et coll. (1997) ont plus tard confirmé la présence de résistance en France.

Les premiers cas en Grande-Bretagne ont été rapportés seulement en 2002, quoique l'apparition de l'acarien ne date seulement que de 1992 dans cette région (Thompson et coll., 2002). Elzen et coll. (1998) ont testé des acariens provenant de différents endroits aux États-Unis et au Mexique pour la résistance. Les acariens du Mexique et du Texas ne montraient pas de signe de résistance alors que ceux de la Californie montraient des signes de résistance modérés et ceux de la Floride étaient très résistants. Ceci a aussi été confirmé par Elzen et coll. (1999b).

### Résistance croisée

Comme le fluvalinate fait partie de la famille des pyréthrinoïdes, il y a des risques de développement d'une résistance croisée avec d'autres produits de la même famille, comme la fluméthrine. Ceci a d'ailleurs été observé par Thompson et coll. (2002) en Grande-Bretagne.

### Réversion

Milani et Vedova (2002) ont récemment rapporté une baisse de la proportion d'acariens résistants au fluvalinate dans une population de *V. destructor* non traitée aux pyréthrinoïdes depuis 1995, en Italie du Nord. Ils suggèrent donc que dans les régions où des acariens résistants ont été découverts, les traitements aux pyréthrinoïdes pourraient être efficaces seulement s'ils sont utilisés à plusieurs années d'intervalle. Un phénomène de réversion relativement lent comme chez *V. destructor* suggère un faible coût physiologique associé à la résistance. Ceci est en accord avec les données rapportées par Martin et coll. (2002) qui ont étudié l'effet de la résistance aux pyréthrinoïdes sur la reproduction et ont conclu que la résistance avait peu ou pas d'effet sur cette fonction chez le parasite. Ceci est typique des cas de résistance dus aux monooxygénases comme avec les pyréthrinoïdes (Milani et Vedova, 2002).

### Sécurité d'utilisation

Perez-Santiago et coll. (2000) ont démontré qu'il existait une très bonne marge entre la dose efficace contre les acariens et la dose dommageable pour les abeilles, ce qui en fait un produit sans danger pour les abeilles aux dosages prescrits. Westcott et Winston (1999) ont fait des expériences pour vérifier si l'Apistan® pouvait avoir des effets négatifs sur la colonie d'abeilles et ils ont trouvé que le produit n'avait pas d'effet sur la croissance de la population, l'activité de butinage, la longévité des adultes, la survie du couvain et la production de miel. Il semblerait donc que ce produit soit sans danger pour les abeilles.

### **Stabilité et persistance du produit**

Faucon et coll. (1995) ont fait des tests permettant de mettre en évidence l'apparition de la résistance au fluvalinate en Italie, en 1994. Ils ont aussi mesuré la quantité de fluvalinate dans les bandes d'Apistan® avant et après un traitement normal. Ils ont conclu que la diminution de l'efficacité du produit n'était pas due à un problème de libération du fluvalinate par les bandes de plastique, mais bien à l'apparition d'une résistance.

En 1999, Feldlaufer (1999) avait réalisé des tests pour voir si le contenu de fluvalinate des bandes d'Apistan® était constant dans différents échantillons neufs provenant de différentes sources, afin de voir si la diminution de l'efficacité du produit pouvait être attribuable à une instabilité ou à une non homogénéité de concentration. Ces tests ont montré que ce n'était pas le cas et que l'efficacité réduite de l'Apistan® aux États-Unis n'est pas due à une variation de la teneur en fluvalinate des lanières d'Apistan®.

L'Apistan® était si efficace avant le développement de la résistance que certains auteurs ont même suggéré que le produit pouvait contrôler efficacement les populations même en utilisant seulement la moitié de la dose recommandée par le fabricant (Ferrer-Dufol et coll., 1995a). D'un autre côté, Bach (1995) suggère qu'il est préférable d'utiliser l'Apistan® selon les recommandations du fabricant car un traitement à moins forte dose peut favoriser le développement de résistance.

#### **4.1.2 Fluméthrine**

Ce produit est un autre insecticide de la famille des pyréthréinoïdes de synthèse, tout comme le fluvalinate et est commercialisé sous le nom de Bayvarol®. Le produit est présenté sous forme de bandes de polychlorure de vinyle (PVC) que l'on insère entre les cadres à la façon de l'Apistan®. Le produit est très persistant dans les bandes de plastique et sa concentration ne diminue que légèrement (environ 9%) au cours d'un traitement de quatre semaines (Floris et coll., 2001a).

Ferrer-Dufol et coll. (1995a) ont suggéré que le Bayvarol® pouvait être utilisé à la moitié de la dose recommandée par le fabricant (2 bandes au lieu de 4) pour contrôler efficacement une population de *V. destructor*. Ces résultats ont été plus tard



confirmés par Floris et coll. (2001a). Perez-Santiago et coll. (2000) ont montré qu'il existait une grande marge entre la dose efficace contre les acariens et la dose dommageable pour les abeilles, ce qui en fait un produit sans danger pour les abeilles. Comme le produit fait partie de la même famille que le fluvalinate, il ne peut être utilisé là où la résistance au fluvalinate a été observée, car un phénomène de résistance croisée le rendrait inefficace (Thompson et coll., 2002).

#### 4.1.3 Coumaphos (Check-mite<sup>®</sup>, Bayer)

Le coumaphos est un insecticide organophosphoré à large spectre qui peut remplacer le fluvalinate dans les régions où la résistance empêche son utilisation (Elzen et coll., 2000). Il inhibe l'action de l'enzyme acétylcholinestérase, ce qui maintient la transmission des influx nerveux. Il agit par contact, ingestion, action des vapeurs et son action est systémique. Au moment auquel ce document est rédigé, l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) a autorisé son usage au Canada contre *V. destructor* pour une période indéterminée. Le produit est connu sous la marque Perizin<sup>®</sup> (liquide) en Europe et CheckMite<sup>®</sup> (bandes plastiques) en Amérique du Nord. L'utilisation du coumaphos sous forme de bandes de plastique (avec 10% de coumaphos) donne d'excellents résultats avec une efficacité de 97% (Baxter et coll., 1999).

Les premiers cas de détection de résistance au coumaphos datent de 1999, en Italie du Nord (Spreafico et coll., 2001). Il n'y a pas encore de cas de résistance rapporté au Québec puisque le produit y a été utilisé pour la première fois en 2003, mais des cas ont été signalés aux États-Unis (Spreafico et coll., 2001), notamment dans le Maine (Pettis, 2004), adjacent à la frontière québécoise. Au Canada, des cas de résistance ont été rapportés en Ontario (Skinner et coll., 2005) et au Nouveau-Brunswick (Maund, 2003), provinces adjacentes au Québec.

Comme le coumaphos est un produit lipophile, il peut s'accumuler dans la cire (Bogdanov et coll., 1998; Wallner, 1999). Il est cependant moins lipophile que les autres produits utilisés dans la lutte contre *V. destructor* (Maver & Poklucar, 2003). Au niveau du danger de résidus dans le miel, les risques associés à l'utilisation de coumaphos sont minimes si le produit est utilisé selon les recommandations, soit en l'absence de chambres à miel et en dehors des périodes de récolte. Une étude en Slovénie a montré

que des résidus de coumaphos étaient présents dans le miel (Maver et Poklular, 2003), suite à une utilisation sous forme liquide (Perizin<sup>®</sup>). Le niveau maximum détecté dans cette étude (0,025 mg/kg) était en deçà du seuil européen de 0,100 mg/kg, mais cela nous montre qu'il faut tout de même demeurer vigilant.

#### 4.1.4 Amitraz

L'amitraz est un insecticide et acaricide de la famille des formamidines agissant comme antagoniste des récepteurs d'octopamine au niveau des synapses excitatrices du système nerveux central des insectes. Il est utilisé en médecine vétérinaire et en agriculture pour le contrôle de plusieurs types de parasites, insectes et acariens. Dans la lutte contre *V. destructor*, il est vendu sous le nom de commerce Apivar<sup>®</sup>, sous forme de bandes de plastique, tout comme l'Apistan<sup>®</sup> (fluvalinate) et le Bayvarol<sup>®</sup> (fluméthrine). Les travaux réalisés sur ce produit indiquent une efficacité de  $83,8\% \pm 3,5\%$ , un faible risque pour la santé des abeilles et peu de risque de contamination des produits de la ruche (Floris et coll., 2001b). Tout comme les autres produits présentés sous forme de bandes de plastique, l'Apivar<sup>®</sup> montre une bonne persistance du produit dans les bandes tout au long du traitement (Floris et coll., 2001b).

Perez-Santiago et coll. (2000) ont montré qu'il existait une grande marge entre la dose efficace contre les acariens et la dose dommageable pour les abeilles, ce qui en fait un produit sans danger pour les abeilles. Contrairement au fluvalinate et au fluméthrine, l'amitraz n'est pas un pyréthrianoïde; il n'y a donc pas de risque de développement d'une résistance croisée avec ces deux produits. Cependant, des signes de résistance ont été rapportés en France (Mathieu et Faucon, 2000) et dans le nord-ouest des États-Unis (Elzen et coll., 1999a) où ce produit est utilisé depuis déjà plusieurs années. L'utilisation de ce produit ne constitue donc pas une solution à long terme.

#### 4.1.5 Autres acaricides chimiques

Le tebufenpyrad, de la famille des pyrazoles utilisés comme pesticides pour les plantes ornementales et en agriculture, a été testé à différentes doses contre *V. destructor* avec un certain succès. Cependant, les dommages causés au couvain, aux abeilles adultes et aux reines au cours de l'expérience étaient inacceptables (Ali et coll., 2003). Ce

produit présente donc un certain potentiel mais d'autres expériences doivent être conduites pour trouver un mode d'application et un dosage sans danger pour les abeilles.

## 4.2 Les produits organiques

### 4.2.1 Les acides organiques

#### 4.2.1.1 L'acide formique

L'acide formique est un acide organique puissant qui existe de façon naturelle dans l'environnement. Ce produit est utilisé dans la lutte contre *V. destructor* depuis longtemps mais il est encore difficile de trouver la bonne façon de l'appliquer. Il existe plusieurs formes de diffuseurs dont certains fonctionnent avec un relâchement rapide de la substance et d'autres avec un relâchement lent. L'efficacité de l'acide formique dépend de plusieurs facteurs, ce qui rend son utilisation complexe (Eischen, 1998). En effet, l'efficacité du produit peut dépendre de plusieurs facteurs comme la température ambiante (Underwood et Currie, 2003), la position du diffuseur (Eguaras et coll., 2003) et les méthodes d'application (Calderone, 1999; Calderone et coll., 2000; Calderone et Nasr, 1999; Feldlaufer et coll., 1997; Ostermann et Currie, 2004).

Au Québec les deux modes d'applications les plus couramment utilisés sont le tampon Mite-Away II<sup>®</sup> conçu pour être utilisé en une seule application massive de 250 mL, et le tampon Mite Wipe conçu pour être utilisé en 3 à 6 applications de 35 mL répétées aux 4 à 7 jours.

Il existe aussi un mode d'application basé sur une volatilisation rapide du produit (traitement « flash », ou ponctuel) pour lequel on utilise généralement 2 ou 3 applications de 2 à 5 mL d'acide formique par cadre d'abeille appliqué sur un essuie-tout placé au fond de la ruche, ce qui permet une évaporation complète du produit en quelques heures.

Habituellement, l'acide formique est considéré comme un traitement complémentaire et non comme un traitement unique. Cependant, une étude récente réalisée par Calderone (2000) suggère que l'acide formique en traitement d'automne pourrait atteindre une efficacité aussi élevée que l'Apistan<sup>®</sup> (94,1% pour AF et 92,6%

pour Apistan® utilisé sur 4 semaines) dans un rucher sans résistance à l'Apistan®. Cette étude est intéressante pour le Québec car elle a été réalisée dans le Nord-Est des États-Unis, donc dans des conditions climatiques semblables aux nôtres. Dans cette étude, Calderone a utilisé un tampon fait maison qui est semblable au Mite-Away II®; son traitement utilisait une seule dose de 300 mL dans des ruches à deux hausses. La santé de la ruche a aussi été évaluée durant cette étude et, malgré un dosage élevé, aucun effet négatif n'a été noté sur le couvain, les jeunes abeilles ou le développement de la colonie (Calderone, 2000). Ceci est en accord avec les résultats de Westcott et Winston (1999) qui ont fait des expériences de printemps pour vérifier si l'AF pouvait avoir des effets négatifs sur la colonie d'abeilles. Ces chercheurs ont trouvé que le produit n'avait pas d'effet sur la croissance de la population, l'activité de butinage, la longévité des adultes, la production de miel ou la santé de la reine et les soins qui lui sont apportés. Par contre, ils ont trouvé que la quantité de couvain présente avait diminué durant le traitement, ce qui laisse croire que le produit pourrait avoir des effets négatifs sur les oeufs et/ou les larves d'abeilles lorsqu'il est utilisé en traitement de printemps. D'autres chercheurs ont aussi rapporté des dommages sur le couvain avec une méthode semblable (Elzen et coll., 2004).

Le mode d'action de l'acide formique sur *V. destructor* a été étudié par Bolli et coll. (1993) qui ont trouvé que le produit fonctionnait par asphyxie. Après avoir mesuré la respiration d'acariens et d'abeilles de différents âges (incluant des larves) à différentes concentrations, ils ont trouvé que l'inhibition plus rapide de la respiration chez les acariens pourrait en partie être due à leur plus faible action de tampon et à une métabolisation réduite. Cela expliquerait, au moins en partie, l'action sélective de l'acide formique sur *V. destructor*. Des effets neurotoxiques sont toutefois possibles aussi bien chez l'abeille que chez le parasite.

Les travaux *in vitro* avec des concentrations élevées (2 500 ppm dans l'air) ont permis de démontrer que les acariens et les jeunes larves d'abeilles réagissent de façon beaucoup plus sensible que les abeilles adultes. Dans la partie pratique (sur le terrain) de leurs travaux, ils ont trouvé qu'avec des concentrations normales de traitement ( $\leq 500$  ppm dans l'air), la respiration des larves d'abeilles n'était pas affectée (Bolli et coll., 1993). Aussi, malgré une forte acidification du corps des animaux dont la respiration a

été inhibée, aucun signe de nécrose n'était visible au microscope électronique (Bolli et coll., 1993).

Comme l'acide formique est un produit hydrophile, son utilisation peut laisser des résidus dans le miel mais non dans la cire. Ainsi les résidus ne s'accumulent pas après plusieurs utilisations comme c'est le cas pour les produits lipophiles. (Bogdanov et coll., 2002; Wallner, 1999).

#### 4.2.1.2 L'acide oxalique

L'acide oxalique peut être utilisée de différentes façons, soit en solution appliquée par égouttement ou pulvérisation directement sur les abeilles ou soit par sublimation à l'aide d'une cuillère chauffante. Lorsqu'elle est utilisée en l'absence de couvain, l'acide oxalique peut atteindre une efficacité de 95 à 99% (Gregorc et Planinc, 2001; 2002; Gregorc et Poklukar, 2003; Imdorf et coll., 1997; Mutinelli et coll., 1997). Par contre, lorsqu'il y a présence de couvain, son efficacité diminue énormément et peut être aussi basse que 25% (Gregorc et Planinc, 2002, 2004; Gregorc & Poklukar, 2003; Higes et coll., 1999). C'est pourquoi l'acide oxalique ne peut être utilisé qu'en début ou en fin de saison de façon efficace.

Higes et coll. (1999) ont été les seuls à rapporter des effets négatifs à long terme lors de l'utilisation de traitements répétés d'acide oxalique en présence de couvain dans la lutte contre *V. destructor* (4 traitements avec une solution à 3% pulvérisée sur les abeilles). Ils ont noté un effet néfaste sur le développement du couvain et sur la survie de la reine.

Il a été démontré en laboratoire qu'il y a un effet synergique de l'acide oxalique et du sucre, ce qui rend le traitement plus efficace (Milani, 2001). L'acide oxalique dilué dans une solution d'eau sucrée peut être conservé pendant plus d'un an à 4°C sans que ses propriétés ne soient altérées. Par contre si on le laisse à la température de la pièce trop longtemps, il y a formation de hydroxyméthylfurfural (HMF) qui est toxique pour les abeilles. Il est donc recommandé d'utiliser une solution fraîche d'acide oxalique ou de la conserver au réfrigérateur ou au congélateur entre les utilisations (Prandin et coll., 2001). Le mode d'action de l'acide oxalique sur l'acarien n'est pas documenté. Il a été suggéré

que les acariens seraient tués après contact avec l'acide (Nanetti, 2005, communication personnelle).

L'acide oxalique est hydrosoluble et peut par conséquent laisser des traces dans le miel (et non la cire) lors de son utilisation dans la lutte contre *V. destructor* (Bogdanov et coll., 2002; Wallner, 1999). Cet acide se retrouve de façon naturelle dans le miel. Bogdanov et coll. (2002) ont mesuré des concentrations naturelles d'acide oxalique variant entre 8 et 119 mg/kg dans différents miels. Ces mêmes chercheurs ont par ailleurs trouvé que des traitements à l'acide oxalique ne faisaient pas varier significativement sa concentration dans le miel. De plus, Bogdanov et coll. (1999) ont déterminé qu'il faut augmenter la concentration à un niveau entre 400 et 900 mg/kg dans le miel avant qu'on puisse détecter un changement dans le goût. L'acide oxalique ne présente donc aucun problème en ce qui a trait aux résidus.

#### **4.2.1.3 L'acide lactique**

Une étude de trois ans effectuée sur deux ruchers du Danemark a montré que l'acide lactique pouvait réduire les populations de *V. destructor* lorsqu'utilisé en absence de couvain (Brdsgaard et coll., 1997). Une solution de 15% d'acide lactique peut être pulvérisée directement sur les abeilles, de chaque côté des cadres. Pour être efficace, le traitement doit être répété au moins trois fois, ce qui demande beaucoup de travail et rend ce traitement peu attrayant pour les apiculteurs commerciaux.

#### **4.2.1.4 L'acide citrique**

Dans une étude comparative menée en laboratoire, Milani (2001) a montré que l'acide citrique avait une activité acaricide, mais que sa toxicité pour *V. destructor* était beaucoup moins importante que celle de l'acide oxalique à la même concentration.

### **4.2.2 Les huiles essentielles**

Les huiles essentielles contenues dans les herbes aromatiques sont responsables des différentes odeurs que dégagent les plantes. Les huiles essentielles se trouvent dans

des glandes minuscules situées dans différentes parties de la plante aromatique : dans les feuilles du basilic, dans les fleurs de rose, dans le fruit du citron, dans les graines de coriandre, dans l'écorce pour la cannelle et dans les racines de certaines plantes. Différents chercheurs ont testé l'effet de plus de 150 huiles essentielles sur *V. destructor* mais la plupart de ces essais n'ont pas été très concluants (Ardeshir et coll., 2002; Imdorf et coll., 1999).

#### 4.2.2.1 Le thymol

Le thymol est l'huile essentielle la plus efficace et la plus utilisée dans la lutte contre *V. destructor* (Ardeshir et coll., 2002; Imdorf et coll., 1999). Plusieurs chercheurs ont toutefois rapporté une grande variabilité dans les résultats obtenus avec différentes formulations de ce produit, avec des efficacités variant de 65% à 98% (Calderone, 2000; Imdorf et coll., 1999). Le produit Apiguard<sup>®</sup> composé d'un gel contenant du thymol, montre une grande variabilité d'efficacité avec des résultats variant entre 67 et 97%. Le produit Apilife VAR<sup>®</sup> est composé principalement de thymol sur un support en vermiculite mais il contient aussi des huiles de menthol, de camphre et d'eucalyptus. Il est disponible seulement en Europe et démontre une efficacité et une constance plus grande avec des résultats variant de 90 à 98% (Imdorf et coll., 2003). Le produit Thymovar<sup>®</sup> a montré un effet et une constance encore plus grands, avec des valeurs d'efficacité allant de 93,6 à 99,5% (Baggio et coll., 2004).

Différents facteurs peuvent influencer l'efficacité du thymol, notamment la température extérieure et la force de la colonie. Le thymol est le plus efficace entre 15 et 20°C, il peut présenter des risques pour une colonie faible à des températures excédant 27°C et devient peu efficace sous les 12°C. L'évaporation du produit et son efficacité sont plus grands dans une colonie forte, puisque la ventilation dans la ruche est améliorée (Baggio et coll., 2004).

Le thymol est liposoluble et peut s'accumuler dans la cire d'abeille (Bogdanov et coll., 1998; Wallner, 1999). Il peut aussi parfois se retrouver en faible quantité dans le miel. Notons qu'une concentration de seulement 1,1 à 1,6 mg/kg peut altérer le goût du miel (Bogdanov et coll., 1998) et c'est pourquoi il doit être utilisé à l'automne, après la récolte de miel.

#### 4.2.2.2 Autre huiles essentielles

Plusieurs autres huiles essentielles sont toxiques ou répulsives pour *V. destructor*. Parmi celles qui présentent un potentiel intéressant on retrouve le menthol (Westcott et Winston, 1999), le linalol (Calderone et Spivak, 1995), la citronnelle (Calderone et coll., 1997), l'huile de girofle (Lindberg et coll., 2000) ainsi que les huiles de sarriette, de lavande, de romarin et de marjolaine (Ardeshir et coll., 2002). Ces huiles ne sont pas utilisées présentement parce que les résultats qu'elles procurent sont souvent inconstants et leur dosage est difficile. Certaines de ces huiles sont aussi efficaces dans la lutte contre *Acarapis woodi*, notamment le menthol (Calderone et coll., 1997).

### 4.3 Les méthodes biotechniques

Les méthodes biotechniques sont un ensemble de manipulations ou de modifications que peut apporter à la ruche l'apiculteur, pour retarder la croissance de l'infestation par *V. destructor*. Ces méthodes sont très variées et même si aucune d'elles ne représente à elle seule un moyen de lutte efficace, ces méthodes peuvent être très utiles dans un contexte de lutte intégrée.

#### 4.3.1 Plateaux anti-*Varroa*

Les plateaux de ruche dits « anti-*Varroa* » sont des plateaux dont le fond consiste en un grillage au travers duquel les acariens peuvent tomber et qui les empêche de remonter sur les abeilles. Certaines ruches ont des plateaux ouverts sous le grillage alors d'autres ont un fond fermé sous le grillage. Pettis et Shimanuki (1999) ont mesuré une réduction de l'ordre de 14 à 28% de *Varroa* dans des colonies avec plateaux grillagés. Selon cette étude, l'utilisation de plateaux grillagés favoriserait aussi une augmentation de la quantité de couvain. Au Québec, des recherches sur ces plateaux sont présentement en cours avec la collaboration du Ministère de l'alimentation, des pêcheries et de l'agriculture du Québec (MAPAQ).



#### 4.3.2 Retrait du couvain de mâles

Une méthode qui a été beaucoup étudiée est celle du retrait périodique du couvain de mâles. Comme *V. destructor* se reproduit préférentiellement dans le couvain des mâles (Calderone et Kuenen, 2001; Fuchs, 1990; Santillán-Galicia et coll., 2002), il est possible de retarder la croissance de la population d'acariens en retirant les cadres appropriés. Certains chercheurs ont réussi à appliquer cette méthode avec un certain succès (67 à 96% d'efficacité) en utilisant des cadres avec des cellules de mâles comme pièges (Calis et coll., 1999), mais cela demande des connaissances avancées et des manipulations fastidieuses.

#### 4.3.3 Chaleur

Cette méthode est utilisée depuis longtemps et consiste à retirer les abeilles de la colonie durant une période sans couvain et de les chauffer à une température d'au moins 40°C pour une certaine période de temps pour faire décrocher les parasites (Harbo, 2000). Cette méthode demande un équipement lourd et est risquée car la différence entre la température à laquelle les acariens sont affectés et celle à laquelle les abeilles sont tuées n'est que de quelques degrés (Hoppe et Ritter, 1986). Il a aussi été rapporté qu'une simple exposition des colonies au soleil pouvait retarder la progression de l'infestation (Rinderer et coll., 2004a).

#### 4.3.4 Sélection génétique

Comme les abeilles asiatiques et les abeilles africanisées tolèrent mieux le parasite, cela laisse croire qu'il serait possible de sélectionner des reines européennes pour les traits qui rendent ces premières tolérantes (Harbo et Harris, 1999).

Des reines d'abeilles dites résistantes de la région de Primorsky, en Russie, ont d'ailleurs été importées aux États-Unis en 1997, pour un programme d'étude sur la sélection génétique (Rinderer et coll., 1999). Cette lignée d'abeille est présentement aussi à l'étude en Ontario et au Québec.

#### 4.4 Les champignons

Plusieurs études récentes ont aussi été réalisées pour explorer le potentiel des champignons entomopathogènes qui s'attaqueraient à *V. destructor* et non aux abeilles. Plusieurs souches semblent présenter un potentiel intéressant (Davidson et coll., 2003; Kanga et coll., 2002; Peng et coll., 2002; Shaw et coll., 2002).

#### 4.5 Les antibiotiques

Comme *V. destructor* est souvent associée à d'autres agents pathogènes viraux et bactériens, Delaplane (1995) a tenté de voir si un antibiotique, la terramycine, normalement utilisé dans la lutte contre la loque américaine et la loque européenne, pourrait avoir un effet bénéfique sur les ruches infestées par *V. destructor*. Pour vérifier cette hypothèse, il a traité différents groupes de ruches infestées avec soit uniquement de la terramycine mélangée à du sucre à glacer (tel que recommandé par le manufacturier), soit uniquement avec de l'Apistan<sup>®</sup>, soit en combinant les deux traitements, ou sans traitement à titre de comparaison. Il a trouvé que la terramycine a fait augmenter le poids corporel des abeilles de différents âges et des abeilles émergentes. De son côté, l'Apistan<sup>®</sup> a fait augmenter le poids corporel des abeilles de différents âges, a aidé à maintenir la population d'abeilles dans des colonies en déclin, a réduit la quantité de *V. destructor* par abeille émergente et a réduit l'incidence des cas d'abeilles émergentes avec des malformations. Aucun effet combiné de l'Apistan<sup>®</sup> et de la terramycine n'a pu être mesuré. Selon Delaplane (1995), comme il n'y a pas d'effet acaricide connu pour la terramycine, il est possible que ce soit la réduction des bactéries associées à *V. destructor* qui a fait augmenter le poids des abeilles dans les ruches traitées uniquement avec la terramycine.

Cependant, comme Fakhimzadeh (2001) a montré que le sucre à glacer pouvait avoir un effet sur *V. destructor*, il est permis de croire que l'effet mesuré pour le traitement à la terramycine dans l'étude de Delaplane était en fait imputable au sucre à glacer contenu dans le mélange qui est saupoudré sur les abeilles. Toutefois, cela n'est probablement pas le cas puisque le traitement à la terramycine n'a pas eu d'effet sur la quantité d'acariens recouverts.

## 4.6 Autres méthodes

Une panoplie de méthodes ont été testées dans l'espoir de trouver un moyen de lutte efficace contre *V. destructor*. Plusieurs de ces méthodes présentent un certain intérêt et pourraient faire l'objet d'études plus poussées. Parmi celles-ci, on retrouve l'utilisation d'extraits de propolis pour ses effets acaricides (Garedew et coll., 2002), l'utilisation d'huiles végétales (Kraus et Page, 1995; Le Conte et coll., 1998) et de sucre à glacer (Fakhimzadeh, 2001).

## 5. Défenses comportementales

Les abeilles présentent deux types de comportement qui sont des moyens de défense naturels contre *V. destructor*. D'une part, il y a le comportement hygiénique, qui consiste à éliminer le couvain infesté par les acariens ou à éliminer les acariens dans le couvain en laissant ce dernier intact. D'autre part, il y a le comportement de toilettage (ou d'épouillage) qui consiste à éliminer les parasites présents sur les adultes (Boecking et Spivak, 1999). Les études reliées au comportement hygiénique et au toilettage incluent des expériences faites avec des cellules infestées de façon naturelle ou artificielle et parfois avec du couvain tué par le gel ou par une aiguille. Les connaissances sur ces comportements ont été répertoriées en détails dans des articles de revue (Boecking et Ritter, 1994; Boecking et Spivak, 1999).

### 5.1 Comportement hygiénique

Le comportement hygiénique serait le principal moyen par lequel *A. mellifera* résiste aux différentes maladies du couvain comme celle dûe à la loque américaine (*Paenibacillus larvae*) et celle du couvain calcifié (*Ascosphaera apis*) (Gilliam et coll., 1983; 1988; Spivak et Gilliam, 1993). Peu de colonies d'abeilles mellifères (10% ou moins) expriment un comportement hygiénique de façon naturelle, mais il est possible de faire de la sélection pour augmenter cette proportion (Boecking et Spivak, 1999). L'importance de ce comportement dans la tolérance des abeilles à *V. destructor* n'est pas

encore parfaitement claire mais elle serait moindre que le comportement de toilettage (Arechavaleta-Velasco et Guzman-Novoa, 2001).

### **Abeille asiatique**

Chez l'abeille asiatique (*A. cerana*), hôte d'origine du parasite, le comportement hygiénique est un mécanisme important de défense qui aide à maintenir l'équilibre dans la relation hôte-parasite (Peng et coll., 1987a; 1987b; Rath, 1999). Dans certains cas, les ouvrières ouvrent une partie des cellules infestées sans retirer le couvain. Les acariens quittent alors la cellule ou ils sont retirés par les ouvrières qui vont ensuite refermer l'opercule de la cellule (Rath et Drescher, 1990; Rosenkranz et Tewarson, 1992; Rosenkranz et coll., 1993; Tewarson et coll., 1992). Les travaux de Rosenkranz et coll. (1993) indiquent que la proportion des cellules nettoyées par les abeilles pourrait être plus faible que ce qui a été rapporté précédemment (Peng et coll., 1987a; 1987b; Rath et Drescher, 1990) car les acariens utilisés dans ces expériences provenaient d'autres colonies (soit de *A. mellifera* ou *A. cerana*) et la provenance des acariens influence la réponse des abeilles. Selon Rosenkranz et coll. (1993), quand des acariens provenant d'une autre colonie sont introduits, 60% des cellules sont nettoyées alors que quand les acariens introduits proviennent de la même colonie, ce taux est réduit à 10%.

Les ouvrières de *A. cerana* ne retirent pas les pupes de mâles infestées car l'opercule qui les recouvre est trop épais. Un mâle fortement parasité devient trop faible pour percer l'opercule et reste ainsi enfermé avec les acariens. Le mâle et les acariens meurent dans la cellule, créant ainsi une sorte de trappe (Rath, 1992).

### **Abeille africanisée**

Les abeilles africanisées tolèrent mieux l'infestation par *V. destructor* que les abeilles d'origine européenne et peuvent dans certains cas tolérer l'infestation sans traitement pendant plusieurs années sans jamais subir de dommages importants (De Jong, 1996). Leur habileté à détecter les parasites pourrait être en partie responsable de cette tolérance. Lors d'une étude faite au Brésil, Guerra jr. et coll. (2000) ont comparé le comportement de nettoyage du couvain de différentes lignées d'abeilles italiennes, africanisées ou hybrides. Ils ont montré des différences importantes entre l'efficacité de

ce mécanisme chez les différentes lignées. Dans un premier groupe, les abeilles africanisées ont enlevé une moyenne de 51% du couvain infesté contre 25% pour des hybrides africanisées/italiennes. Dans un deuxième groupe, les abeilles africanisées ont retiré 59% du couvain infesté contre 31% pour les italiennes élevées avec des reines purement italiennes provenant des États-Unis. Un troisième groupe comparait les abeilles africanisées avec des abeilles italiennes qui démontraient une résistance naturelle au parasite (sans traitement depuis plus de 12 ans). Dans ce dernier groupe, les abeilles africanisées ont retiré 61% du couvain contre 35% pour les abeilles italiennes, dites résistantes.

Correa-Marques et De Jong (1998) ont aussi pu vérifier la propension des abeilles africanisées à nettoyer les cellules infestées. Ils ont trouvé que les cellules ouvertes prématurément par les ouvrières avaient un taux d'infestation par *V. destructor* quatre fois plus élevé que l'ensemble des cellules. Parmi les 360 cellules désoperculées durant l'étude, 46% étaient infestées par *V. destructor* alors que le taux d'infestation de l'ensemble des cellules était de 12%, ce qui démontre que ces abeilles sont en mesure de discriminer les cellules infestées.

### **Abeille mellifère**

Malgré le fait que le comportement hygiénique soit moins prononcé chez *A. mellifera*, cette dernière a aussi souvent été observée en train de nettoyer des cellules infestées par *V. destructor* (Boecking et Spivak, 1999).

En conditions naturelles, il a été montré que les abeilles désoperculent plus souvent des cellules infestées que des cellules saines (Martin et coll., 2001). Le nombre d'acariens présents dans la cellule a aussi une influence sur l'efficacité du comportement. Flores et coll. (2001) ont fait une étude sur le comportement hygiénique des abeilles envers des acariens artificiellement introduits dans des cellules, sur une période de 24 heures. Lorsque les abeilles ont détecté la présence de *V. destructor*, elles ont parfois retiré à la fois la pupa et les acariens, alors que dans d'autres cas seulement les acariens étaient retirés. Lorsqu'un seul acarien était présent, aucune différence n'a pu être mesurée en comparaison avec les cellules témoins. Par contre lorsque deux ou trois acariens

étaient introduits, la réponse des abeilles a été significativement plus élevée, 8,01% et 16,62% des cellules étant nettoyées.

Des composés chimiques pouvant être extraits avec du méthanol à partir d'acariens morts semblent être impliqués dans la capacité des abeilles à repérer les parasites (Martin et coll., 2001).

Il est reconnu que l'expression du comportement hygiénique est influencée par des facteurs environnementaux (Boecking et Spivak, 1999). Par exemple, l'influence d'un stockage plus ou moins élevé de pollen sur le comportement d'élimination du couvain et la reproduction de *V. destructor* a été évaluée (Janmaat et Winston, 2000). L'étude, qui a eu lieu en Colombie-Britannique, a montré que les abeilles de colonies ayant une réserve plus grande de pollen ont tendance à nettoyer plus efficacement les cellules infestées. Les colonies à réserve élevée ont retiré 49% des larves infestées contre 33% pour les colonies à réserve faible. La quantité de pollen en réserve n'a pas eu d'influence sur la reproduction de *V. destructor* (Janmaat et Winston, 2000).

Il a aussi été montré que des abeilles de colonies issues de sélection pour leur comportement hygiénique retirent plus de couvain tué par le gel ou par une aiguille ainsi que plus de couvain infesté par *V. destructor* que des colonies sélectionnées pour un faible comportement hygiénique (Spivak, 1996; Spivak et Downey, 1998). D'autres travaux ont fait ressortir que des colonies sélectionnées pour leur comportement hygiénique avaient une population moins grande d'acariens après un an sans traitement (Spivak et Reuter, 1998). Ces études montrent un potentiel de solution à long terme par la sélection pour ce comportement.

## 5.2 Comportement de toilettage (ou d'épouillage)

L'auto-toilettage des abeilles peut être observé régulièrement sur les fleurs, durant la récolte de pollen ainsi qu'à l'intérieur de la colonie. Le toilettage social (par une autre abeille) peut être observé dans la colonie et peut être déclenché par une danse de toilettage (Haydak, 1945; Milum, 1947). Les abeilles stimulées par cette danse deviennent temporairement spécialisées dans le nettoyage et peuvent toiletter plusieurs abeilles d'affilé (Kolmes, 1989). Durant le toilettage par une autre ouvrière, l'abeille qui se fait nettoyer place ses ailes perpendiculairement à son corps pour faciliter le travail et

permettre d'atteindre les parties ne pouvant être nettoyées par elle-même (Božič et Valentičič, 1995).

Le toilettage est reconnu comme étant un mécanisme important de résistance contre l'acariose (*Acarapis woodi*) chez les lignées d'abeilles résistantes à cet acarien parasite (Danka et Villa, 1998). Cependant, son importance dans la résistance contre *V. destructor* n'est pas encore claire (Arechavata-Velasco et Guzman-Novoa, 2000; Boecking et Spivak, 1999).

Un bon moyen d'évaluer le potentiel d'une ruche pour la sélection en fonction du comportement de toilettage est d'évaluer la proportion d'acariens endommagés dans les débris de la ruche (Bienefeld et coll., 1999). Il faut cependant prendre soin de s'assurer d'avoir une bonne méthodologie pour éviter d'obtenir des résultats faussés par les dommages causés par les fourmis, la grande teigne et d'autres ennemis. Bienefeld et coll. (1999) recommandent aussi de ne pas laisser les acariens dans les débris pour plus de deux jours. Il est aussi important de distinguer les dommages causés aux acariens matures ou immatures puisque les dommages causés aux immatures proviennent moins souvent des abeilles. Aussi, la localisation des dommages doit être considérée (Bienefeld et coll., 1999; Lodesani et coll., 1996).

### **Abeille asiatique**

Le comportement de toilettage est plus prononcé chez l'abeille asiatique que chez l'abeille mellifère. Ceci a d'abord été démontré par Peng et coll. (1987a) puis confirmé par d'autres chercheurs (Boecking et Spivak, 1999). En comparant le comportement d'épouillage des abeilles asiatiques et mellifères, Fries et coll. (1996) ont trouvé que les abeilles asiatiques sont plus efficaces que les abeilles mellifères pour endommager les acariens. Ces chercheurs ont montré que seulement 12,5% des acariens trouvés dans les débris des colonies d'abeilles mellifères présentaient des signes d'agression (dommages physiques). Cette proportion s'élevait à 30% chez les abeilles asiatiques.

Il est à noter que malgré que le comportement de toilettage et le comportement hygiénique contribuent à maintenir l'équilibre dans la relation hôte-parasite chez *A. cerana*, il est possible que ceux-ci ne soient pas les facteurs les plus importants (Boecking et Spivak, 1999). En effet, selon Fries et coll. (1994), le fait que *V. destructor*

se reproduise presque uniquement dans le couvain de mâles, qui n'est pas présent toute l'année, serait suffisant pour expliquer la tolérance de *A. cerana* au parasite.

### **Abeille africanisée**

Tout comme le comportement hygiénique, le comportement de toilettage est plus prononcé chez l'abeille africanisée que chez l'abeille mellifère (Aumeier, 2001).

### **Abeille mellifère**

Même si *A. mellifera* exhibe un comportement de toilettage moins prononcé que *A. cerana*, ce comportement est bien présent chez elle et a été observé par plusieurs chercheurs (Boecking et Spivak, 1999). Les ouvrières de *A. mellifera* sont en mesure, elles aussi, de tuer des acariens durant les séances de toilettage, puisque des acariens encore vivants et endommagés ont été trouvés dans les débris des colonies (Boecking et Spivak, 1999). Dans ces études, les chercheurs ont pris soin de protéger les débris contre des insectes ou de la vermine qui auraient pu entrer dans la colonie et infliger des dommages aux acariens. Par exemple, la grande teigne (*Galleria mellonella*) peut être responsable de certains dommages causés aux acariens (Bienefeld et coll., 1999; Szabo et Walker, 1995).

Martin et coll. (2001) ont aussi observé que les abeilles, placées dans un pétri avec des individus de *V. destructor*, exhibent un comportement d'épouillage parfois agressif. Lorsque les abeilles sont mises en présence d'une boule de cire sur laquelle se trouve un parasite (servant de témoin), elles exhibent un comportement semblable mais sans agression (pincement avec les mandibules).

Pour terminer, il est important de noter que le fait qu'une colonie montre un comportement hygiénique efficace n'implique pas que son comportement de toilettage le soit également (Spivak, 1996). Des cas de populations d'*Apis mellifera* montrant une grande résistance naturelle contre *V. destructor* ont aussi été rapportés. Boecking et Ritter (1994) ont par exemple étudié une population d'*Apis mellifera intermissa* en Tunisie qui survit à l'infestation sans traitement. En étudiant cette population, ils ont constaté que ces abeilles montraient un comportement hygiénique et un comportement de toilettage



efficaces. Ces colonies sont probablement des descendantes des colonies ayant survécu sans traitement quand le parasite est apparu en Tunisie, vers 1976.

## **6. Dépistage et détermination du taux d'infestation**

Afin de lutter efficacement contre la varroase, il est important de pouvoir détecter assez tôt la présence du parasite dans les colonies. La présence de *V. destructor* n'est pas facile à détecter quand le niveau d'infestation d'une colonie est bas, car une bonne proportion des individus sont cachés dans les alvéoles et ceux qui sont sur les adultes ne sont pas facilement visibles car ils sont souvent placés entre les sclérites de l'abdomen (Bowen-Walker et coll., 1997). Les chercheurs voulant étudier cette parasitose ont donc été forcés de développer différentes méthodes de dépistage pour tenter d'établir le niveau d'infestation des colonies. Aucune méthode explorée ne s'est avérée parfaite, mais certaines semblent offrir une meilleure représentation du niveau réel d'infestation. On peut les classer en trois grandes catégories : méthodes avec bocal, examen du couvain et utilisation des cartons collants.

### **6.1 Méthodes avec bocal (roulement ou lavage)**

Dans cette méthode, l'idée est de prélever un échantillon d'abeilles dans la colonie, de les placer dans un pot et de déloger les acariens présents sur elles, pour ensuite les dénombrer. Les acariens peuvent être délogés par l'action d'un solvant comme l'éther ou le benzène. Dans ces cas, une petite quantité de solvant est insérée dans le pot, qui est ensuite roulé. Les acariens délogés se collent à la paroi du pot où ils peuvent être comptés. L'autre technique pour déloger les acariens consiste à baigner les abeilles dans un liquide et à brasser le pot. Le mélange est ensuite passé au travers d'un grillage laissant passer les acariens et non les abeilles, à la manière d'un tamis. Le grillage peut être dans le pot et on laissera alors le mélange se décanter. Il peut aussi être à l'extérieur du pot, et dans ce cas, le mélange sera versé sur un grillage ou le grillage sera dans le couvercle du pot.

#### *Lavage*

De Jong et coll. (1982) ont testé différentes solutions pour déloger les abeilles en utilisant la méthode d'immersion totale (ou lavage) des abeilles. Leur méthode utilisait un pot de plastique avec un grillage à l'intérieur. Après avoir testé 7 substances différentes, ils ont conclu qu'une solution à 25% d'alcool (éthanol ou alcool isopropylique) était le choix le plus pratique et le plus économique. Selon ces chercheurs, un brassage à la main d'une durée de 1 minute déloge 92% des parasites alors qu'un brassage mécanique de 30 minutes déloge 100% des parasites.

Rinderer et coll. (2004b) ont récemment conclu que l'utilisation de savon à vaisselle était une alternative efficace et économique à l'alcool pour déloger les acariens. Ils ont aussi conclu que l'utilisation d'un brasseur mécanique améliorait les résultats par rapport à un brassage à la main.

Fakhimzadeh (2000) a testé une méthode utilisant une centrifugeuse portative sur le terrain avec du détergent comme liquide. Il a trouvé qu'une plus forte concentration de détergent aide à déloger plus d'acariens et que la proportion d'acariens recouvrés augmentait en augmentant la vitesse de centrifugation. Il a estimé que sa méthode pouvait déloger plus de 90% des acariens dans un échantillon, si le taux d'infestation dépasse 3 acariens par 100 abeilles. Il a aussi trouvé que les résultats étaient meilleurs si les abeilles sont préalablement congelées.

### *Roulement*

Gruszka (1988) a décrit une méthode utilisant de l'éther en aérosol et le roulement des abeilles dans un pot. Il est recommandé d'utiliser un échantillon d'au moins 1 000 abeilles pour détecter un bas niveau d'infestation (Collison et coll., 1991; Gruszka, 1988).

Il semble que la technique du roulement à l'éther ne donne pas toujours de bons résultats. Par exemple, Ellis et Baxendale (1994) n'ont réussi à déloger que 59% des acariens contenus dans leur échantillon par un roulement à l'éther.

Plus récemment, Macedo et coll. (2002) ont testé 6 différentes poudres qui pourraient déloger les acariens. Il s'agit du sucre en poudre, du sucre fin (fine sugar), de la farine de blé, de la poudre de talc, de la fécule de maïs et du bicarbonate de soude. Ils ont conclu que le sucre en poudre était le plus efficace (avec 93% des parasites délogés).

Après en avoir fait la comparaison, ils ont déterminé que le sucre en poudre était aussi efficace que l'éther pour la méthode du roulement.

## 6.2 Méthode d'examen du couvain.

La deuxième méthode consiste à examiner directement le couvain pour détecter la présence de *V. destructor*. Szabo (1989) a décrit une méthode rapide pour détecter la présence du parasite dans une colonie. Il s'agit simplement d'utiliser un peigne à désoperculer (servant normalement à la récolte de miel) et de transpercer du couvain operculé afin d'enfourcher un trentaine de nymphes. Comme les nymphes sont blanches, on peut facilement voir les acariens qui sont de couleur brune. Cette méthode est plus efficace si on échantillonne du couvain de mâles et malgré qu'elle soit rapide et facile, elle ne permet pas toujours de détecter des bas niveaux d'infestation. Elle ne permet pas non plus de connaître le taux d'infestation total des colonies puisqu'on ne connaît pas la relation entre ce dernier et le taux d'infestation du couvain de mâles. On recommande généralement d'examiner entre 100 et 200 larves pour obtenir un résultat valable (Fries et coll., 1991; Herbert et coll., 1989).

## 6.3 Méthode des cartons collants

La troisième méthode consiste à placer dans le fond de la ruche un carton collant pour récolter les acariens qui tombent au fond de la ruche pendant quelques jours (Calatayud et Verdu, 1993). Cette méthode peut être utilisée seule ou avec un acaricide pour augmenter la quantité de parasites retrouvés sur le carton. Quand on l'utilise sans acaride, on parle de tombée naturelle.

La première détection de la présence de *V. destructor* en Hollande a été faite grâce à cette technique. Ruijter et Eijnde (1984) ont placé un carton au fond des ruches à l'étude et, après avoir ajouté une hausse vide pour éviter l'asphyxie des abeilles, ils ont bouché l'entrée des ruches et ont soufflé de la fumée de tabac à l'intérieur. La fumée de tabac étant acaricide (Ruijter, 1982), les acariens tués sont tombés sur le carton au fond de la ruche.

La méthode peut aussi être utilisée avec de l'acide formique pour détecter la présence du parasite. Cependant, il est recommandé d'attendre au moins 24 heures avant de retirer le carton car l'effet de l'acide formique n'est pas aussi rapide que celui d'autres acaricides (Ellis et Baxendale, 1994).

Quand la quantité d'acariens sur les cartons est grande (500 et plus), il est possible d'obtenir des résultats précis, même en comptant les acariens seulement sur une partie de la surface du carton (Ostiguy et Sammataro, 2000).

Cette méthode est reconnue comme étant la plus sensible pour détecter la présence du parasite même à des bas niveaux d'infestation (Fries et coll., 1991).

#### 6.4 Comparaison entre les méthodes

Toutes ces méthodes permettent la détection de *V. destructor*, certaines avec plus de sensibilité que d'autres. Herbert et coll. (1989) ont comparé les tombées d'acariens avec les acaricides chimiques fluvalinate et amitraz à la méthode du roulement à l'éther (ether-roll). Le fluvalinate a été utilisé en bandes de plastique de la marque Apistan® ou en fumée et l'amitraz a été utilisé en fumée. Les deux méthodes utilisant la fumée ont donné des résultats corrélés avec la méthode du roulement à l'éther. Les résultats avec l'Apistan® n'y étaient cependant pas corrélés. Dans la deuxième étude, Witherell et Bruce (1990) ont comparé la tombée de *V. destructor* suite à différents traitements acaricides, ainsi qu'avec la méthode du roulement à l'éther. Parmi toutes les méthodes qu'ils ont testé, ils ont conclu que l'ordre des méthodes de la plus efficace à la moins efficace pour déloger les acariens était : fumée de fluvalinate > fumée d'amitraz > fumée de tabac > roulement à l'éther.

Al-Ghamdi et Hoopingarner (2004) ont comparé les méthodes d'échantillonnage du couvain et des abeilles adultes avec celle des cartons collants et ils ont conclu que le carton collant était plus approprié pour la détection initiale de la présence du parasite. Ces conclusions sont en accord avec celles de Fries et coll. (1991) qui ont conclu qu'en été, il valait mieux étudier les débris de la ruche (équivalent à utiliser les cartons collants) plutôt que d'échantillonner le couvain. Ils ajoutent cependant que lorsqu'il n'y a pas de couvain, l'échantillonnage des adultes est aussi efficace que l'étude des débris et qu'en hiver, l'étude des abeilles mortes est aussi efficace que l'étude des débris de la ruche.

Étant donné que plusieurs facteurs peuvent influencer la détection de *V. destructor* dans les colonies (le rucher, le climat, l'âge des abeilles échantillonnées, etc.), il est recommandé de faire des tests de dépistage à différents moments de la saison et d'échantillonner le maximum de ruches possible (Ferrer-Dufol et coll., 1995b).

## **7. But, objectifs et hypothèses des projets de recherche**

### ***But***

Le travail qui suit porte sur deux études en champ qui avaient pour but de trouver des alternatives au fluvalinate dans la lutte contre la varroase. Ces deux études sont désignées, selon la saison de leur réalisation, soit « Projet d'été » et « Projet d'automne ».

### ***Objectifs***

#### **1) « Projet d'été »**

Évaluer l'efficacité, l'innocuité et la sécurité d'utilisation d'un traitement estival à l'acide formique ou à l'acide oxalique, réalisé entre deux récoltes de miel.

#### **2) « Projet d'automne »**

Évaluer l'efficacité, l'innocuité et la sécurité d'utilisation de quatre différents traitements (thymol, acide formique, fluvalinate et coumaphos), chacun combiné à un traitement ponctuel d'acide oxalique appliqué soit en octobre, en novembre ou en décembre.

### ***Hypothèses***

#### **1) « Projet d'été »**

Un traitement estival des ruches avec l'acide formique ou l'acide oxalique réduira suffisamment la population de *Varroa destructor* pour permettre aux colonies d'abeilles d'atteindre le mois de septembre ou même le mois de novembre sans que le niveau de parasitisme létal soit atteint.

## 2) « Projet d'automne »

Un traitement contre le parasite *Varroa destructor* (utilisant le thymol, l'acide formique, le fluvalinate ou le coumaphos), combiné à un traitement ponctuel d'acide oxalique appliqué en période de pré-hivernage et d'hivernage, réduirait le niveau d'infestation dans les ruches à un seuil assez bas pour éviter un dépérissement des colonies pendant l'hiver, leur permettant de traverser la période estivale suivante sans atteindre le seuil létal de la population de *Varroa* et ce, jusqu'à l'automne suivant.

## PRÉSENTATION DE L'ARTICLE

David Saintonge, Pierre Giovenazzo, Pascal Dubreuil: Evaluation of fluvalinate, coumaphos, thymol, oxalic acid and formic acid against *Varroa destructor* in Eastern Canada. (À soumettre: Veterinary Parasitology, 2005)

**Evaluation of fluvalinate, coumaphos, thymol, oxalic acid and formic acid against *Varroa destructor* in Eastern Canada.**

**David Saintonge<sup>a</sup>, Pierre Giovenazzo<sup>b</sup>, Pascal Dubreuil<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> Université de Montréal, Faculté de Médecine Vétérinaire, Département des Sciences Cliniques, 3200 rue Sicotte, Saint-Hyacinthe, QC, Canada, J2S 7C6.

<sup>b</sup> Université Laval, Faculté des Sciences et de Génie, Département de Biologie, QC, Canada G1K 7P4.

Address all correspondance to Dr. Pascal Dubreuil, Faculté de Médecine vétérinaire, 3200 rue Sicotte, J2S 7C6, Saint-Hyacinthe, QC, Canada.

 Tel : 450-773-8521 #18266



## Abstract

Summer and fall studies to control *Varroa destructor* were conducted in two beekeepers of the province of Quebec, Canada to evaluate the efficacy and safety of 1) two early-July treatments ( $n = 30$  / treatment) using either oxalic acid (OA, 4% in sugar 1:1 solution, 100 mL by dripping; one application) or formic acid (FA, 65%, 35 mL Mite wipe evaporating pad; one application) in hives with two honey supers and 2) four mid-September treatments ( $n = 48$  / treatment) using either: A) formic acid (65%, 3 appl., 5 days apart, 35 mL, Mite wipe evaporating pad); B) thymol (TH, 1 Thymovar<sup>®</sup> wafer, 30 days); C) fluvalinate (FV, 2 Apistan<sup>®</sup> strips, 42 days) or D) coumaphos (CM, 2 CheckMite<sup>®</sup> strips, 42 days), each coupled with a single OA treatment (4% in sugar 1:1 solution, 100 mL by dripping) in October, November or December on hives with one brood chamber. Data from the summer study show no adverse effect of the treatments on honey production and brood rearing. Although OA increased mite drop following its application, none of the treatments resulted in a lower mite population in September ( $p > 0.05$ ). Higher FA honey concentrations were measured in the FA-treated hives (24-64 mg/kg). Data from the fall study show that TH, FA and CM treatments coupled with OA in late fall or early winter achieved a similar efficacy with less than 50 mites per hive remaining in April. FV-treated hives had the lowest efficacy ( $p < 0.05$ ) with 73.3 ( $\pm 32.4$ ) mites remaining in one beekeeper. Colonies that had a natural daily mite drop over 50 in September had a mortality rate of 50% and more during the winter, regardless of the treatment combination used in the fall.

In conclusion, data from the summer study show that one application of FA or OA in July was safe for the bees but did not succeed to reduce mite populations in fall; and fall data show that a combination of either TH or FA in September coupled with OA applied when no brood is present was as efficient as CM to reduce mite populations. The fall treatments with TH and FA also reduced *Acarapis woodi* populations.

**Keywords :** *Apis mellifera*, *Varroa destructor*, *Acarapis woodi*, oxalic acid, formic acid, thymol, fluvalinate, coumaphos.

## 1. Introduction

The parasitic mite *Varroa destructor* Anderson & Trueman (formerly named *Varroa jacobsoni* Oudemans) is a worldwide major pest of the honeybee (*Apis mellifera* Linnaeus) (De Guzman & Rinderer, 1999). The mite is well known to damage immature and adult bees causing the death of the colony within a few years if left untreated (Ritter, 1981). Bee injury is mainly the result of mite feeding on adult and immature honeybees and the transmission of debilitating viral diseases (Martin, 2001).

*Varroa destructor*, first discovered in Canada in 1989 and then later in the province of Quebec in 1991, is now encountered throughout the country. Until 2002, in the eastern Canada, it was effectively controlled by the pyrethroid fluvalinate (FV) (Apistan®). This acaricide was the only registered product to control the parasite in Canada until 2003. During the winter 2002-2003, Quebec's beekeepers lost 50% of their colonies, due to the development of a resistance to this acaricide. Resistance to FV had previously been recorded in the U.S. (Baxter *et al.*, 1998; Elzen *et al.*, 1998) and in Europe, where heavy colony losses have also been reported (Lodesani *et al.*, 1995; Trouiller, 1998). Because it is lipophilic, another disadvantage of FV when repetitively used, is the accumulation of residues in the beeswax and to a lesser extent in honey (Wallner, 1999).

In response to this crisis, the Canadian Pest Management Regulatory Agency (PMRA) allowed a temporary emergency use of coumaphos (CM) (CheckMite+®) strips to control mite populations in Canada. Formulated 10% CM strips has proven to be very effective with up to 97% mite reduction in field trials (Baxter *et al.*, 1999; Elzen *et al.*, 2000). However, it does not represent a long term solution since resistance to this organophosphorous acaricide has already been reported in Europe (Spreafico *et al.*, 2001) and in many US states (Elzen *et al.*, 2004), notably in Maine (Pettis, 2004), which is near the Quebec border. In Canada, cases of CM resistance have also been reported in the provinces of Ontario (Skinner *et al.*, 2005) and New-Brunswick (Maund, 2003), which are also neighbors of Quebec. As for FV, CM is lipophilic so it has the same consequences, but this product tends to migrate more easily to honey (Kochansky *et al.*, 2001; Wallner, 1999).

Organic compounds such as organic acids and essential oils, which are used in Western Europe, are now regarded as promising alternatives. The most widely used products are oxalic acid (OA), formic acid (FA) and thymol (TH) based products (Imdorf *et al.*, 2003). When used in broodless colonies, OA has been found to reach a high efficacy ranging from 95 to 99% according to several authors (Gregorc & Planinc, 2001; Gregorc & Planinc, 2002; Gregorc & Poklukar, 2003; Imdorf *et al.*, 1997; Mutinelli *et al.*, 1997). However, its efficacy drops as low as 25% when used in presence of brood (Gregorc & Planinc, 2002; Gregorc & Planinc, 2004; Gregorc & Poklukar, 2003). Some negative effects on brood development and queen mortalities have been reported when the OA was intensively used (4 repetitions of 3% OA in 1:1 sugar solution at 7 day intervals, using 4 mL per side of each comb) (Higes *et al.*, 1999).

Formic acid (FA) is recognized to have a strong acaricidal effect (Maul & Kramer, 1980) but effective and reliable control with FA has proven elusive (Eischen, 1998). In fact the product's efficacy is highly variable and is related to factors such as external temperature (Underwood & Currie, 2003), position of the dispenser (Eguaras *et al.*, 2003) and treatment application methodologies (Calderon *et al.*, 2000; Calderone, 1999; Calderone & Nasr, 1999; Feldlaufer *et al.*, 1997; Ostermann & Currie, 2004). Formic acid has also been reported to have adverse effects on brood and larvae if used when the external temperature is over 20°C at high doses (250 mL Mite Away II<sup>®</sup> evaporating pads) (Elzen *et al.*, 2004). Because of their hydrophilic properties, FA and OA can leave residues in honey but not in beeswax so the residues do not accumulate with repeated applications as for lipophilic acaricides (Bogdanov *et al.*, 2002; Wallner, 1999).

More than 150 essential oils have been tested to control *Varroa* parasitism and the thyme essential oil, or thymol (TH), has proven to be the most efficient and safe product until now (Ardeshir *et al.*, 2002; Imdorf *et al.*, 1999). Imdorf *et al.* (2003) reported an efficacy of 90% to 98% using Apilife VAR<sup>®</sup>. Its use in the Thymovar<sup>®</sup> formulation is even more reliable with reported values of 93.6% to 99.5% efficacy and less variability (Baggio *et al.*, 2004). Since it is lipophilic, TH can also accumulate in beeswax and less in honey (Bogdanov *et al.*, 1998; Wallner, 1999).

Mite population builds up rapidly during the summer months. Observations made by Calatayud & Verdu (1995) have shown that mite population growth is exponential, doubling every 33 days. These findings were confirmed by Calis *et al.* (1999) using a mathematical model in which the authors found that mite population doubles every 30 days under northern European conditions. This is important to understand when trying to aim the treatments at a key moment, either in July when the mite population starts to build up quickly, and/or in September to reduce the mite load of the winter bee population.

The aim of the first study was to evaluate the efficacy and safety of a mid-summer treatment using either OA or FA between honey crops to reduce mite populations. The aim of the second study was to compare the efficacy and safety of four different early fall treatments (thymol (TH), formic acid (FA), fluvalinate (FV) and coumaphos (CM)), each combined with a single OA treatment applied either in October, November or December.

## 2. Material and methods

Two distinct experiments were conducted during the summer and fall 2003 and data were collected until spring 2004. Both studies were realized in the same region within an area of 25 km from the city of Saint-Hyacinthe (45°28'N, 73°45'W), located 50 km south-east of Montreal, in Quebec, Canada. The area is heavily cultivated and the average honey production is  $\pm 50$  kg/year for a standard colony.

The region has an annual rainfall averaging 966,8 mm and the temperature varies from above 30°C in the summer to below -30°C in the winter, with snowfall during 4 months (December-March). The average annual temperature is 6.1°C. Colonies for both experiments were provided by two professional beekeepers owning more than 500 hives each and having more than 30 years of experience in bee management. They will be referred to as beekeeper A and B throughout the paper.

*Varroa sampling:* Populations of *V. destructor* were evaluated using sticky boards (Pherotech®) placed on the bottom of the hives. A plastic mesh (F.W.Jones & Son Ltd.) was placed on the sticky board to avoid having the bees sticking to it.

*Oxalic acid (OA):* The OA (Laboratoire Giroux, lot #6937) was diluted in a (1:1) sugar syrup solution at a 4% concentration (40 g/L) and treatment was applied by pouring the solution directly onto the bees, between the frames. The OA solution was kept at 4°C between the applications to avoid the formation of hydroxymethylfurfural (HMF) which can be harmful for the bees (Prandin *et al.*, 2001).

*Formic acid (FA):* The FA (Univar Canada Ltd., lot #18V033032835) was applied using Mite-Wipe evaporating pads. These are distributed by Munro Honey (Alvinston, Ontario, Canada). They are in fact absorbent pads commonly used for absorbing excess moisture from poultry products in groceries. They are 3.5 cm by 15.5 cm in size and about 2 or 3 mm thick. The pads are soaked in 65% FA and can absorb 35 mL. They are carried to the apiary in a plastic box, and then one pad per hive is applied directly on the top bars of the frames in the brood chamber, slightly shifted to the back.

*Thymol (TH)*: One Thymovar<sup>®</sup> (Andermatt BioVet AG) wafer was used for each hive. Each wafer contained 15 g of TH and was placed on the top of the frames as the FA pads and were left in the hives for a four week period.

*Fluvalinate (FV)*: Two Apistan<sup>®</sup> (Wellmark International) strips containing 10% FV were placed in each hive and left in place for 42 days as recommended by the manufacturer.

*Coumaphos (CM)*: Two CheckMite+<sup>®</sup> (Bayer CropScience) strips containing 10% CM were placed in each hive and left in place for 42 days as recommended by the manufacturer.

## **2.1 Summer study**

This experiment was conducted between June 23<sup>rd</sup> and September 26<sup>th</sup> 2003. Each beekeeper provided 45 hives for a total of 90 hives. For each beekeeper, the hives were distributed in three apiaries of 15 hives. Within each of these apiaries, hives were grouped in 3 isolated lots of 5 colonies, 10 m apart. The hives from each treatment were distinctly identified with large signs of different shapes and colors to help the orientation of the bees, thus avoiding drifting as much as possible. For this part of the study, all the colonies from both beekeepers were mounted on regular bottom boards and they were kept in Langstroth wooden hives with one brood chamber and two honey supers. Hive entrances heights were 15 mm and 10 mm for beekeepers A and B respectively.

For all 6 apiaries, each lot of 5 hives was assigned to one of the 3 following treatments: (1) Control group: hives received no treatment but had the same manipulations as the two other groups; (2) FA group: hives received a single dose (35 mL, Mite-Wipe evaporating pad); (3) OA group: hives received a single treatment consisting of 100 mL of sugar syrup solution (4% OA) resulting in a 4 g per hive application.

In early July, the colonies were sampled with sticky boards for two consecutive periods of three days before treatments and five consecutive periods of three days

following the treatment applications. Another three days of sampling was done in August. Lastly, two sampling periods were done for periods of five days before and five days after a CM control treatment in September. Each hive was weighted periodically during the experiment to evaluate honey production.

A jute carpet of 1 m<sup>2</sup> was placed in front of the hive's entrances to enable the evaluation of bee mortalities related to the treatments.

All honey supers were taken off and replaced by empty supers just before the beginning of the treatments. These supers were removed at the end of the study and samples of honey were analyzed for organic acid residues. For each beekeeper, the honey from the 15 colonies receiving the same treatment was pooled and later analyzed at the Centre de recherche en santé animale de Deschambault (CRSAD) by HPLC (high precision liquid chromatography). Organic acids were analyzed after a 0.2 N sulphuric acid extraction (Smith *et al.*, 1964) at 4°C during 12 hours. A HPLC (Waters corporation, Massachusetts, USA) Waters 600E was performed according to the methods developed by Canale *et al.* (1984) and Doyon *et al.* (1991) for organic acids of silage, using an AMINEX HPX-87H strong cation exchange resin column (ID 7.8 mm X 30 cm, Bio-Rad laboratories, California, USA) at 40°C. The assay was done in triplicates.

## **2.2 Fall study**

This part of the study was conducted between September 23<sup>rd</sup> 2003 and April 23<sup>rd</sup> 2004. For this experiment the same two beekeepers provided 96 hives for a total of 192 hives. For beekeeper A, the hives and treatments were divided in two apiaries of 48 hives all mounted on “anti-*Varroa* bottom boards” which consisted of a 2.2 cm thick wooden frame with a wire mesh resting on the hive floor. For beekeeper B, the 96 hives were at the same location and mounted on regular bottom boards. For each beekeeper, the 96 hives were divided in four treatment groups (fluvalinate (FV), coumaphos (CM), formic acid (FA) and thymol (TH)). In each fall apiary, the colonies coming from different summer apiaries were mixed together and equally distributed within the four different treatments. Colonies from different treatments were distributed in an alternative pattern, avoiding any effect that could be related to the position in the apiary. The 24 hives from

each treatment group were then subdivided in three subgroups of eight colonies, one group per treatment date of OA application (Table 1).

The hives were identified with a different color for each treatment to reduce drifting. The hives were all brought down to one chamber before the beginning of the treatments.

For this study, the four main treatments were: (1) Two Apistan<sup>®</sup> strips for the FV treatment; (2) Two Check Mite+<sup>®</sup> strips for the CM treatment; (3) Three applications of FA (Mite-wipe pads) five days apart for the FA treatment; (4) One Thymovar<sup>®</sup> wafer for the TH treatment.

The following OA treatments were 50 mL of 4% OA sugar solution applied by dripping, resulting in a 2 g per hive application. For the colonies that received the OA treatment by sublimation in December (see calendar in Table 1), 2 g per hive was applied by sublimation using a Varro<sup>®</sup> (Andermatt BioVet AG) spoon connected to a 12 V deep cycle marine battery. The entrance was closed during the treatment and remained closed for a 15 minute period after the acid was completely evaporated.

All colonies were sampled with sticky boards for a five day period before the main treatment. Thereafter, sticky boards were placed for periods ranging from four to eight days as needed to evaluate the mite drop during the different treatments. The last sampling was made in spring 2004, before and immediately after a CM control treatment application.

Both beekeepers fed the bee colonies with sugar syrup (sucrose) in September, after removing the honey supers. The bees had to rob the syrup from barrels in the apiary. The hives were weighted periodically to evaluate the sugar syrup intake in the fall and to evaluate its consumption over the fall and winter periods.

Bee populations were evaluated on November 25<sup>th</sup> 2003 and April 5<sup>th</sup> 2004, just before and after the wintering. The evaluations were done by counting the number of spaces between the frames that were completely filled with bees in cold (under 10°C) cloudy mornings to enable a good comparison. This rapid evaluation method provides a good estimate of the bee population in the hive.

The bees were also tested for two other diseases to see if the colony mortalities over the winter could be related to these diseases and to assess the efficacy of the



treatments against them. Ten colonies from each treatment of each beekeeper were tested for nosemosis (*Nosema apis*) and acariosis (*Acarapis woodi*). Around 250 bees were collected from several colonies from each treatment and stored in 70% isopropyl alcohol. For acariosis, sections of bees thorax were digested in 8% potassium hydroxyde (KOH) for 24 hours and then the trachae were placed in a petri dish and observed under a binocular microscope at 450 x. For nosema, bee's digestive tubes were shredded in 2-3 mL of water and a few drops of the suspension were placed on an hemacytometer lamellae and observed at 400 x.

*Statistical analysis:* For both studies, data was analyzed using a linear regression model and further post hoc investigations were done with Tukey-Kramer tests. The software used was SAS version 8.2 (Cary, N.C.).

### 3. Results

#### 3.1 Summer project

##### 3.1.1 Mite drop following the treatments

Mite drop before and following the treatments are presented in Fig.1. No significant difference was found between the treatment groups for both beekeepers for the pre-treatment period in late June ( $p>0.05$ ), indicating an overall homogenous distribution of *Varroa* population between the treatment groups at the beginning of the project.

The average daily natural mite drop during these pre-treatment periods were  $1.55\pm0.19$  and  $0.27\pm0.04$  mites/day for beekeepers A and B respectively ( $p<0.05$ ). The average daily mite drop was also significantly higher for beekeeper A than for beekeeper B at all other sampling periods.

Application of FA did not induce a higher mite drop when compared either to the control group or the pre-treatment period. The OA treatments induced a higher mite drop which was significant ( $p<0.05$ ) only in beekeeper A, indicating an effect of the product for the first three days following the treatment. In beekeeper A, during the last three sampling periods, control colonies had a higher daily mite drop ( $p<0.05$ ) than both organic acid treated hives.

##### 3.1.2 Comparison between treatments

No significant difference ( $p>0.05$ ) was observed between the treatments in the total mite drop following the CM control treatment application in September (Fig. 2). The average mite drop was again higher ( $p<0.05$ ) for beekeeper A ( $1040\pm147$ ) compared to beekeeper B ( $206\pm20$ ).

##### 3.1.3 Brood and bees

No significant difference ( $p>0.05$ ) was found between the treatment groups or between the beekeepers ( $p>0.05$ ) in the number of frames containing brood. The quantity of brood was significantly higher ( $p<0.05$ ) 17 days after the treatments with an average of  $7.4\pm0.2$  frames versus  $6.7\pm0.2$  frames the day prior to the treatments. No important bee

mortality was observed on the jute carpets placed in front of the hives following the treatments.

#### *3.1.4 Honey production*

The average honey production was 30.5 ( $\pm 0.9$ ) kg from July 1<sup>st</sup> to September 1<sup>st</sup>. No significant difference was found between the treatment groups ( $p > 0.05$ ) or between the beekeepers ( $p > 0.05$ ) in the August honey production.

#### *3.1.5 Organic acids residues*

None of the treatments resulted in an increase of OA over 20 mg/kg for both beekeepers, which was the limit of detection. The concentrations of FA were found to be higher in honey sampled from the colonies treated with this product. The levels of FA were also higher overall for beekeeper B. The limit of detection for FA was 25 mg/kg. The honey FA concentrations for beekeeper A and B were: <25, 51 and 27 mg/kg and 107, 149 and 85 mg/kg for the control. FA and OA treatments respectively.

### **3.2 Fall project**

#### *3.2.1 Oxalic acid method of application*

The two methods of application (dripping and sublimation) used for the December OA treatment were compared to assess any effect on the measured variables. No significant difference ( $p > 0.05$ ) was found for any of the parameters (syrup intake and consumption, bee population, mite drop, survival) so the results were pooled.

#### *3.2.2 Colony survival*

Colony survival data in relation to the September main treatments, as well as the month of OA application, are presented in Tables 2 and 3, respectively. For the purpose of this study, colonies with less than 3 frames spacings filled with bees in the spring 2004 were considered as dead. The survival was lower for beekeeper A than for beekeeper B ( $p < 0.05$ ). Beekeeper A had a survival rate of 66.7% compared to 87.5% for beekeeper B. For beekeeper B, there was a difference ( $p < 0.05$ ) in the survival depending on the

treatments (Table 2). Colony survival was higher in the CM and TH groups followed by the FA and FL groups which had the same number of surviving colonies. For beekeeper A, there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) according to the date at which the OA was applied (Table 3). Survival was significantly higher for colonies treated in December compared with those treated in October and November.

Fig. 6 shows the colony mortality rate in April 2004 according to the daily mite drop in September 2003. Data shows that colony mortality reaches 50% when the daily mite drop in September is over 50, regardless the combination of treatments used in fall.

### *3.2.3 Bee population*

Bee population results are presented in Tables 2 and 3. The spring evaluation was made before the CM control treatment in April 2004 and data is reported only for the colonies that survived the winter. Colonies from beekeeper B kept an overall higher bee population ( $p < 0.05$ ) for all treatments compared to beekeeper A. For beekeeper B, no difference in bee population ( $p > 0.05$ ) was observed between the treatments. For beekeeper A-, FV- and CM-treated hives had a higher bee population in spring.

### *3.2.4 Mite drop during the treatment period*

The results for the daily mite drop during the treatment period are presented in Fig. 3. For each section (S, O, N and D), the first and second set of data are the pre- and post-treatment daily mite drop. During the pre-treatment sampling period in September (Fig 3., Section S), no difference was found between the four treatments in each beekeeper ( $p > 0.05$ ). Beekeeper A had a higher daily mite drop ( $p < 0.05$ ) with an average of  $42.9 \pm 0.6$  vs  $22.7 \pm 0.4$  mites/day for beekeeper B. In September (Fig. 3, Section S), following the four main treatments application, a significantly higher ( $p < 0.05$ ) mite drop was observed for all treatments when compared to the pre-treatment period.

Sections O, N and D (Fig. 3) illustrate the daily mite drop before and after the OA applications in October, November and December. For each month (O, N and D) a different set of eight colonies per treatment for each beekeeper received the OA application.

In October (Fig. 3, Section O), only the colonies from TH and FA groups received an OA application since the FV and CM strips were still in the hives. The TH wafers were removed the same day the OA was applied. In November and December (Sections N and D), all the colonies from the second and third groups received the OA treatment. The treatments with OA at each month induced a significant ( $p < 0.05$ ) mite drop when compared to the pre-treatment data, except for the CM-treated hives.

### *3.2.5 Mite drop in spring*

The natural daily mite drop in the spring 2004 are presented in Fig. 4 for beekeepers A and B. In beekeeper A, a higher ( $p < 0.05$ ) mite drop was recorded for colonies that had received OA in October compared to November and December. However this observation was not as clear for beekeeper B, where no significant difference ( $p > 0.05$ ) were found. The total mite drop following the CM control treatment in the spring 2004 are presented in Fig. 5 for beekeepers A and B. A similar pattern of total mite drop was observed for the daily mite drop except for the CM group.

### *3.2.6 Syrup intake and consumption*

Results for syrup intake and consumption are shown in Tables 2 and 3. Only the colonies that had survived winter were included in the analysis of the winter syrup consumption. The syrup intake was higher for beekeeper A with an average of 17.1 ( $\pm 0.6$ ) kg compared to beekeeper B with an average of 10.1 ( $\pm 0.4$ ) kg ( $p < 0.05$ ).

### *3.2.7 Other diseases*

For beekeeper A, only a single bee was found to be infected with acariosis in the CM group, and none was found to be infected with noseiosis. These diseases clearly did not have an impact for this beekeeper.

For beekeeper B, the situation is more complicated. The bees treated with FV and CM had infestation rates of 13% and 36%, respectively for acariosis while the bees from the TH and FA groups had all tested negative. For noseiosis, the results were difficult to interpret. The colonies treated with FA and FV were all negative compared to the colonies from the TH group showing a low level of infestation ( $\pm 750,000$  spores/bee). In

the CM group, some bees tested negative and others had a high level of infestation (>10,000,000 spores/bee).

## 4. Discussion

This study reports the effect of different treatments methods to control *Varroa* mite infestation in commercial beekeepers. The selected methods allowed comparison of registered treatments to other possible methods at the commercial scale.

The sticky board method of sampling was chosen because it was reported to be the most reliable to evaluate the mite population of a bee colony and to evaluate the efficacy of an acaricide treatment, even at low levels of infestation (Calatayud & Verdu, 1993; Fries *et al.*, 1991; Ritter, 1981). Moreover, CM being used for the first time in Quebec in 2003 enables an excellent efficacy of this acaricide as a control (Baxter *et al.*, 1999; Elzen *et al.*, 2000).

In April 2003, before the summer project, both beekeepers experimented spring treatments to reduce the number of remaining mites in their colonies following the fall 2002 treatments. Beekeeper A used a 250 mL FA (65%) treatment with evaporating pads (Mite-Away II<sup>®</sup>, NOD Apiary Products Ltd.). Such formulation has been reported to have an efficacy of 51-56% (Calderone, 1999; Calderone & Nasr, 1999). Beekeeper B used two applications of 100 mL of 4% OA in a 50% sugar syrup 14 days apart in the end of March and mid-April. The OA spring treatment used by beekeeper B had an efficacy of 98% (unpublished data) as can be observed in Fig. 1 with a natural daily mite drop of less than 1 mite/day up to September.

### 4.1 Summer project

Honey production, bee populations and egg laying by the queens were not influenced by the summer treatments, indicating that the treatments were safe for the bees, the queens and the brood at the dosage used. This is in accordance with many authors reporting no adverse effects of OA (Gregorc & Planinc, 2001; Gregorc & Planinc, 2002; Gregorc & Poklucar, 2003; Mutinelli *et al.*, 1997) or FA (Calderone, 2000; Westcott & Winston, 1999).

Only the OA treatment caused a higher daily mite drop during the first three days following the treatment application when compared to the pre-treatments period,

indicating an acaricidal effect of the OA during summer time. However, this effect was significant ( $p < 0.05$ ) only in beekeeper A.

No effect of the FA treatment was observed in both beekeepers following its application. When the treatment was applied, the daytime ambient temperature was 27°C for beekeeper A (July 1<sup>st</sup>) and 28.5°C for beekeeper B (July 6<sup>th</sup>) and FA should be effective at these temperatures (Underwood & Currie, 2003). This suggests that the FA vapours did not reach a concentration high enough to induce mite mortality. Feldlaufer *et al.* (1997) and Ostermann & Currie (2004) found peak concentrations of FA in the air of 20 ppm in double brood chamber hives and 222 ppm in a single brood chamber hives, after an application of 250mL evaporating pads. The hydrophylicity of FA (Wallner, 1999) might also explain its absorption in the freshly harvested nectar brought in the empty supers.

When the CM control treatment was applied in September, there was no significant difference ( $p > 0.05$ ) between both treatment groups vs the control group in the number of falling mites. This indicates that the summer treatments did not reduce the mite population sufficiently to have an impact on the *Varroa* population at the end of the summer (Fig. 2). Knowing that OA treatments have limited efficacy ( $\pm 25\%$ ) in presence of brood (Gregorc & Planinc, 2002; Gregorc & Poklukar, 2003), it was not expected that the OA would have a dramatic influence on the September *Varroa* population. However, the dosage used was higher than those applied by others which are in the 2-5%, 30-50 mL range (Gregorc & Planinc, 2001; Gregorc & Planinc, 2002; Gregorc & Planinc, 2004; Gregorc & Poklukar, 2003; Higes *et al.*, 1999; Imdorf *et al.*, 1997). Since good efforts were made to reduce drifting, reinvasion probably does not account for the lack of difference between the treatments although this can not be verified with certainty. It is possible that reproduction of *Varroa* in late summer was so fast that the effect of the treatments was simply overwhelmed by the rapid reproduction of the mites.

According to different authors (Calatayud & Verdu, 1995; Calis *et al.*, 1999) the *Varroa* population doubles every 30 days during summer time. In the present study, the daily mite drop remained stable from the beginning of July to the beginning of August, and then rose rapidly during August and September. In fact, the natural daily mite drop of



the control group increased 8.7 fold in 41 days in beekeeper A and 8.4 fold in 28 days for beekeeper B during the August-September period (Fig. 1).

For beekeeper A, during the last three sampling periods prior to the CM control treatment, the control group had a higher mite drop than OA and FA treated colonies but this difference was not reflected in the total mite drop following the CM control treatment. Is it possible that the treatments killed the phoretic mites and left only the ones in the brood alive? These observations were not found in beekeeper B, probably because the colonies had a lower level of infestation. These results emphasise the importance of using a control treatment to evaluate the true efficacy of a treatment.

The natural content of OA in honey can vary greatly with concentrations reported from 11 to 119 mg/kg (Bogdanov *et al.*, 2002), from 5 to 65 mg/kg by Moosbeckhofer *et al.* (2003) and  $239.79 \pm 61.72$  mg/kg by Mutinelli *et al.* (1997). The taste threshold for OA was established at 300-900 mg/kg depending on how strong the aroma of the honey is (Bogdanov *et al.*, 1999). The OA concentrations in the honey of treated hives in this experiment were all under 20 mg/kg, which was the limit of detection. Even if OA is known to be hydrophilic (Bogdanov *et al.*, 2002; Wallner, 1999), field trials made by Mutinelli *et al.* (1997) showed there is no increase of OA in the honey content even during a trial with repeated OA applications (5% OA, 25-30 mL), although their study was conducted in the fall.

The natural content of FA in honey has been found to vary from 17 to 284 mg/kg (Bogdanov *et al.*, 2002). In this study, the FA treatment increased honey concentrations by 26-64 mg/kg when compared with the control group. Concentrations from the FA treated colonies were 51 and 149 mg/kg for beekeepers A and B, respectively. Those values are under the taste threshold of 150-600 mg/kg established by Bogdanov *et al.* (1999). In field trials, Bogdanov *et al.* (2002) found only a small increase of 46 mg/kg of FA following two treatments made in August and September. When the FA was used as an emergency spring treatment however, they found an increase of 193 mg/kg. It should be noted however that the dosage used for each treatment was 130 mL at 70% FA.

## 4.2 Fall project

For beekeeper A, the TH and FA groups had the highest bee populations in the fall and the lowest bee populations in the spring (Table 3). These results suggest that these treatments might have been harmful to the bees. However this is unlikely since no difference ( $p > 0.05$ ) was found between the treatments in beekeeper B. The other treatments (FV and CM) were safe and did not affect bee populations. The application date of OA did not affect the bee population (Table 4).

Immediately following the four main treatments in September, in preparation for the winter, colonies were fed sugar syrup which they had to rob from barrels. Some differences were found between the four treatments in the syrup intake for beekeeper A but not for beekeeper B (Table 3). For both beekeepers, although not statistically significant, the formic acid group had the lowest syrup intake. The syrup intake cannot have been influenced by the application date of the OA since the beekeepers stopped the feeding before the first OA application. The differences found for beekeeper B might be explained by some unknown factors, or are simply due to sampling error.

Syrup consumption during the winter period was the same for all the four main treatments for both beekeepers indicating that none of the treatments affected the feeding behavior or the activity of the bees during the winter. The colonies treated with OA in October had the lowest syrup consumption in both beekeepers (Table 4), suggesting some colonies disturbance for November and December.

Colony survival for both beekeepers was higher for the CM group, although only significant for beekeeper B. This might be explained by a higher CM efficacy to control *Varroa*. Survival for beekeeper A was significantly higher in the group of colonies that received the OA in December, regardless of the main 4 treatments (Table 4). This is probably because the December OA application was the most effective at controlling *Varroa* populations (Fig. 5).

Data show that when daily mite drop in September was higher than 50 mites/day, half the colonies died during the winter regardless of the four main treatments and the OA application (Fig. 6). These results are in accordance with those reported by Delaplane & Hood (1999) who estimated the economic threshold in the southeastern USA at  $\pm 3,000$ -4,000 varroas in a colony of  $\pm 25,000$ -35,000 bees in August. According to these

authors, this would correspond to a natural daily mite drop of 59-187, or an infestation rate of about 12%. In the present study, colonies with a natural daily mite drop over 125 had a mortality rate of 89%. A winter colony mortality rate of 10% is considered normal by the beekeepers in Eastern Canada. In this study, colonies that had a daily mite drop under 30 in September had a mortality rate of 10%. This would correspond to a total mite population of  $\pm 1,500-2,000$ . The economic threshold for Eastern Canada is probably around 2,000 mites in September and is probably associated to a longer winter.

During the pre-treatment period (Fig. 3, section S), no significant difference ( $p > 0.05$ ) was found between the treatment groups in both beekeepers indicating an homogenous distribution among the treatments. When the treatments were applied, CM induced a higher mite drop during that period for both beekeepers indicating its rapid lethal action on varroa (Baxter *et al.*, 1999; Elzen *et al.*, 2000). The FA treatment consisted of three applications five days apart but only the mite drop following the first application is shown in Fig 3. The two following applications induced similar mite drops as the first one. Repeated applications with this method may have resulted in a more even vapor concentration level of FA in the hives than the 250 mL formulations for which the amount of FA evaporated in the hive is very high during the first few days and then drops rapidly (Calderone, 1999; Calderone & Nasr, 1999), sometimes suppressing brood development (Elzen *et al.*, 2004; Ostermann & Currie, 2004).

In October (Fig. 3, section O), during the pre-OA treatment sampling period, the FV and CM strips and the TH wafers were still in the hives. The higher mite drop for the FV and TH groups suggest that these products were still active at that time. When the TH wafers were removed and OA was applied, the TH and FA groups had similar mite drops in both beekeepers, indicating a similar acaricidal effect of the two products.

In November (Fig. 3, Section N), no difference ( $p > 0.05$ ) was found in the natural daily mite drop for the pre-treatment period. Following OA application, for beekeeper A, only the CM group was lower than the others, indicating again the high efficacy of this product. For beekeeper B, the four treatments were significantly different from each other ( $p < 0.05$ ). The FV group had the highest mite drop, indicating a mite population resistant to the product (Baxter *et al.*, 1998; Elzen *et al.*, 1998; Lodesani *et al.*, 1995; Trouiller,

1998). The CM group had the lowest mite drop, confirming again its high efficacy (Baxter *et al.*, 1999; Elzen *et al.*, 2000).

In December (Fig. 3, Section D), as in November, no difference ( $p > 0.05$ ) was found in the natural daily mite drop for the pre-treatment period. Following the OA application, the mite drop was similar to the November OA application suggesting a similar effect of the OA applied at that date, although the overall mite drop was lower in beekeeper A. The TH scent was still present when the TH-treated hives were opened, even in December several weeks after the TH wafers had been removed.

Figures 4 and 5 present the data from spring 2004. The real efficacy of the different treatment combinations can be seen in Fig. 5, after the CM control treatment application. For beekeeper A the colonies from all four treatment groups that received the OA in October were significantly more infested than those that received OA in November and December. These results are in accordance with other studies that showed that OA is really effective only when there is no brood left in the colonies (Gregorc & Planinc, 2002; Gregorc & Poklucar, 2003). The November and December OA treatments gave similar results although the December treatment seems to have been a little more efficient. Normally no brood is left in the colonies in mid-November in eastern Canada, but during the Fall 2003, there was an exceptionally warm week in late October, during which some queens had started to lay again. So there was some colonies with some small patches of capped brood left on 1 or 2 frames when the November OA treatment was applied which might explain the small difference with the December group.

The total mite drop in the FV group from the colonies treated in October vs December can be compared to evaluate the efficacy of the OA treatment in absence of brood since the FV group did not receive any OA in October. The December OA treatment reduced the mite population by 89.8 and 88.7% for beekeeper A and B respectively. This is lower than the efficacy of 95 to 99% previously reported (Gregorc & Planinc, 2001; Gregorc & Planinc, 2002; Gregorc & Poklucar, 2003; Imdorf *et al.*, 1997; Mutinelli *et al.*, 1997).

For beekeeper A, the FA did not seem to have killed the mites in the brood as reported by Calderon *et al.* (2000) who used a 15 mL application of 85% FA on a sheet cardboard positioned at the bottom of the hives. The treatments realized in October in

presence of brood did not reduce mite populations as the treatments realized in absence of brood (Fig. 5). For beekeepers A and B, respectively, the average total mite drop in April was 97.2 and 74.3% higher in the colonies treated in October when compared to those treated in December (excluding the CM and FV groups, which did not receive OA in October). In beekeeper B however, no difference was found between the groups treated at different dates with OA for the FA group. This may be because the hive entrance was smaller in beekeeper B, allowing a higher concentration of FA in the hives that might have killed some mites in the brood but this is unlikely at the doses used (Calderon *et al.*, 2000). The use of anti-*Varroa* bottom boards in beekeeper A also increased the air volume in the hive, which might contribute to lower the FA concentration in the air.

Comparing the data of all the colonies that received the OA in December, it is useful to compare the efficacy of the four main treatments coupled with OA in absence of brood. For beekeeper A, the TH, FA and CM groups were similar, averaging 4.5, 2.3 and 0.9 mites left after the CM control treatment in April (Fig. 5). Only the FV group was higher than the others with an average of 15.6 mites, indicating its lower efficacy and confirming resistance (Baxter *et al.*, 1998; Elzen *et al.*, 1998; Lodesani *et al.*, 1995; Trouiller, 1998). For beekeeper B, the TH, FA and FV groups had similar mite drops averaging 23.1, 47.4 and 73.3 respectively and the CM group was lower with an average of 11.6 mites. Although not significant, the FV group had the highest mite population as for beekeeper A. The reason of the overall higher infestation level in beekeeper B in April 2004 is probably because the highly infested colonies of beekeeper A died during the winter (Fig. 6). Some of the difference might also be attributed to the use of “anti-*Varroa*” bottom boards by beekeeper A. These boards have shown interesting potential but their usefulness still has not been proved (Pettis & Shimanuki, 1999).

The daily mite drop before the CM control treatment in April (Fig. 4) can be compared to the total mite drop after the CM control treatment (Fig. 5) to obtain predictive values of the total mite population. The ratio (total mite drop following control treatment/daily mite drop before the control treatment) is 87.1 for beekeeper A and 94.7 for beekeeper B. It should be noted that data from the CM colonies were excluded to obtain this ratio because of their low counts.

Assuming that *Varroa* populations should double every 30 days (Calatayud & Verdu, 1995; Calis *et al.*, 1999), a mite population of 50 in April would allow the colonies to thrive until the next September treatment. The mite population would then theoretically reach  $\pm 1,600$  which is well under the economic threshold of 3,000-4,000 established by Delaplane & Hood (1999) for the southeastern USA, and also under the 2,000 threshold found in this study. This value of 50 mites during wintering can be used as a threshold to measure the success or failure of the fall treatments (Imdorf *et al.*, 2003). For beekeeper A, all the colonies treated with OA in November and December have spring mite populations under 50 regardless of the four main treatments. Also, all the colonies from the CM group were under that threshold, even if the CM October group did not receive any OA. It should be remembered that this beekeeper had a survival rate of only 66.7% and the most heavily infested colonies died. The results from beekeeper B, which had a higher survival rate (87.5%), are probably more representative. For this beekeeper, all the colonies from the CM group had a remaining mite populations of under 50 regardless of the OA treatment, and even without an OA treatment. For the other groups, only the TH and FA colonies treated in December with OA had mite populations of under 50. This means that a TH or FA treatment in September combined with an OA treatment in absence of brood is as effective as a CM treatment to reduce mite population at an acceptable level.

Some authors (Imdorf *et al.*, 1999 for a review) reported high variability of efficiency using several formulations of TH with results from 65 to 98%. These problems were not observed in the present study. This may be due the use of the Thymovar® wafers (Baggio *et al.*, 2004) or to the subsequent addition of OA.

The dripping and sublimation techniques used for the December OA application produced similar results for efficacy, bee populations and sugar syrup consumption. This is in accordance with the findings of Imdorf *et al.* (2003) who found no difference in efficacy or safety between the two methods of application. However, the dripping method is faster and safer for the beekeeper with colonies kept inside.

No *Acarapis woodi* were found in the spring in the colonies that received the FA and TH treatments. Acaricidal effect of TH (Calderone *et al.*, 1997; Rice *et al.*, 2002; Whittington *et al.*, 2000) and FA (Hoppe *et al.*, 1989; Wilson & Collins, 1991, 1993) on

the tracheal mite had already been reported. Treatments with TH should be used only when no honey super are present because although it is lipophilic and tends to accumulate in beeswax (Bogdanov *et al.*, 1998; Wallner, 1999), a concentration as low as 1.1-1.6 mg/kg can alterate the taste of honey (Bogdanov *et al.*, 1998).

In conclusion, data from the summer study show that one application of FA or OA in July was safe for the bees but did not succeed to reduce *Varroa* populations in fall. The concentrations of FA in honey were slightly increased (24-64 mg/kg) in the FA-treated hives. New studies using higher dosages need to be conducted to evaluate the efficacy and safety of summer treatments.

Fall data show that a combination of either TH or FA in September coupled with OA used in fall when no brood is present is as effective as a chemical acaricide treatment if used with the appropriate timing and doses. Since mites show signs of resistance to FV in this area and considering that CM can only be used for a limited time before resistance appears, these organic products offer promising alternatives.

## Acknowledgements

The authors would like to thank François Dubreuil and Yves Gauvin who provided the hives for the project, Justin Rousselle, Nancy Rodrigue, Hélène Leblanc, Maxime Frenière and Patrick Desnoyers for their technical assistance (counting *Varroas* and hive manipulations) and the Québec Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAPAQ), the *Institut National de Santé Animale* (INSA) and the University of Montreal for their financial support. Finally, we would like to thank Guy Beauchamp for his precious help with the statistical analysis and Madeleine Chagnon for her review work.

## References

- Ardeshir, A., Rahim, E., Gholamhosein, T., 2002. Laboratory evaluation of some plant essences to control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). Exp. Appl. Acarol. 27, 319-327.
- Baggio, A., Arculeo, P., Nanetti, A., Marinelli, E., Mutinelli, F., 2004. Field trials with different thymol-based products for the control of varroosis. Am. Bee J. 144, 395-400.
- Baxter J., Eischen F., Pettis J., Wilson W.T., Shimanuki H., 1998. Detection of fluvalinate-resistant *Varroa* mites in U.S. honey bees. Am. Bee J. 138, 291.
- Baxter, J.R., Ibarra, J., Wilson, W.T., Arther, R.G., Kellerby, J.D., Stewart, J., 1999. Amitraz or coumaphos efficacy tests in Guatemala for control of *Varroa jacobsoni* in honey bees. Southw. Entomol. 24, 309-313.
- Bogdanov, S., Charriere, J.D., Imdorf, A., Kilchenmann, V., Fluri, P., 2002. Determination of residues in honey after treatments with formic and oxalic acid under field conditions. Apidologie 33, 399-409.
- Bogdanov, S., Imdorf, A., Kilchenmann, V., 1998. Residues in wax and honey after Apilife VAR<sup>®</sup> treatment. Apidologie 29, 513-524.
- Bogdanov, S., Kilchenmann, V., Fluri, P., Bühler, U., Lavanchy P., 1999. Influence of organic acids and components of essential oils in honey taste. Am. Bee J. 139, 61-63.
- Calatayud, F., Verdu, M.J., 1995. Number of adult female mites *Varroa jacobsoni* Oud. on hive debris from honey bee colonies artificially infested to monitor mite population increase (Mesostigmata: Varroidae). Exp. Appl. Acarol. 19, 181-188.



Calatayud, F., Verdu, M., 1993. Hive debris counts in honeybee colonies: a method to estimate the size of small populations and rate of growth of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. (Mesostigmata: Varroidae). Exp. Appl. Acarol. 17, 889-894.

Calderon, R.A., Ortiz, R.A., Arce, H.G., Van Veen, J.W., Quan, J., 2000. Effectiveness of formic acid on varroa mortality in capped brood cells of africanized honey bees. J. Apic. Res. 39, 177-179.

Calderone, N.W., 1999. Evaluation of formic acid and a thymol-based blend of natural products for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). J. Econ. Entomol. 92, 253-260.

Calderone, N.W., 2000. Effective fall treatment of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) with a new formulation of formic acid in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in the northeastern United States. J. Econ. Entomol. 93, 1065-1075.

Calderone, N.W., Nasr, M.E., 1999. Evaluation of a formic acid formulation for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in a temperate climate. J. Econ. Entomol. 92, 526-533.

Calderone, N.W., Wilson, W., Spivak, M., 1997. Plant extracts used for control of the parasitic mites *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). J. Econ. Entomol. 90, 1080-1086.

Calis, J.N.M., Fries, I., Ryrie, S.C., 1999. Population modelling of *Varroa jacobsoni* Oud. Apidologie 30, 111-124.

Canale, A.M., Valente, E., Ciotti, A., 1984. Determination of Volatile Carboxylic Acids (C1-C5i) and Lactic Acid in Aqueous Acid Extracts of Silage by High Performance Liquid Chromatography. J. Sci. Food Agric. 35, 1178-1182.

De Guzman, L.I., Rinderer, T.E., 1999. Identification and comparison of *Varroa* species infesting honey bees. *Apidologie* 30, 85-95.

Delaplane, K.S., Hood, W.M., 1999. Economic threshold for *Varroa jacobsoni* Oud. in the southeastern USA. *Apidologie* 30, 383-395.

Doyon, G., Gaudreau, G., St-Gelais, D., Beaulieu, Y., Randall, C.J., 1991. Simultaneous HPLC determination of organic acids, sugars and alcohols. *Can. Inst. Sci. Technol. J.* 24, 87-94.

Eguaras, M., Palacio, M.A., Faverin, C., Basualdo, M., Hoyo, M.L., del Velis, G., Bedascarrasbure, E., 2003. Efficacy of formic acid in gel for *Varroa* control in *Apis mellifera* L.: importance of the dispenser position inside the hive. *Vet. Parasitol.* 111, 241-245.

Eischen, F.A., 1998. Trials (and tribulations) with formic acid for varroa control. *Am. Bee J.* 138, 734-735.

Elzen, P.J., Baxter, J.R., Spivak, M., Wilson, W.T., 2000. Control of *Varroa jacobsoni* Oud. resistant to fluvalinate and amitraz using coumaphos. *Apidologie* 31, 437-441.

Elzen P.J., Eischen F.A., Baxter J.R., Pettis J., Elzen G.W., Wilson W.T., 1998. Fluvalinate resistance in *Varroa jacobsoni* from several geographic locations, *Am. Bee J.* 138, 674-676.

Elzen, P.J., Westervelt, D., Lucas, R., 2004. Formic acid treatment for control of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) and safety to *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) under Southern United States conditions. *J. Econ. Entomol.* 97, 1509-1512.

Feldlaufer, M.F., Pettis, J.S., Kochansky, J.P., Shimanuki, H., 1997. A gel formulation of formic acid for the control of parasitic mites of honey bees. *Am. Bee J.* 137, 661-663.

Fries, I., Aarhus, A., Hansen, H., Korpela, S., 1991. Comparison of diagnostic methods for detection of low infestation levels of *Varroa jacobsoni* in honey-bee (*Apis mellifera*) colonies. *Exp. Appl. Acarol.* 10, 279-287.

Gregorc, A., Planinc, I., 2004. Dynamics of falling varroa mites in honeybee (*Apis mellifera*) colonies following oxalic acid treatments. *Acta Vet. Brno.* 73, 385-391.

Gregorc, A., Planinc, I., 2002. The control of *Varroa destructor* using oxalic acid. *Vet. J.* 163, 306-310.

Gregorc, A., Planinc, I., 2001. Acaricidal effect of oxalic acid in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie* 32, 333-340.

Gregorc, A., Poklukar, J., 2003. Rotenone and oxalic acid as alternative acaricidal treatments for *Varroa destructor* in honeybee colonies. *Vet. Parasitol.* 111, 351-360.

Higes, M., Meana, A., Suarez, M., Llorente, J., 1999. Negative long-term effects on bee colonies treated with oxalic acid against *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 30, 289-292.

Hoppe, H., Ritter, W., Stephen, E.W.C., 1989. The control of parasitic bee mites: *Varroa jacobsoni*, *Acarapis woodi* and *Tropilaelaps clareae* with formic acid. *Am. Bee J.* 129, 739-742.

Imdorf, A., Bogdanov, S., Ochoa, R.I., Calderone, N.W., 1999. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. *Apidologie* 30, 209-228.

Imdorf, A., Charriere, J.D., Bachofen, B., 1997. Efficiency checking of the *Varroa jacobsoni* control methods by means of oxalic acid. *Apiacta* 32, 89-91.

Imdorf, A., Charriere, J.D., Kilchenmann, V., Bogdanov, S., Fluri, P., 2003. Alternative strategy in Central Europe for the control of *Varroa destructor* in honey bee colonies. *Apiacta* 38, 258-285.

Kochansky, J., Wilzer, K., Feldlaufer, M., 2001. Comparison of the transfer of coumaphos from beeswax into syrup and honey. *Apidologie* 32, 119-125.

Lodesani, M., Colombo, M., Spreafico, M., 1995. Ineffectiveness of Apistan treatment against the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in several districts of Lombardy (Italy). *Apidologie* 26, 67-72.

Martin, S.J., 2001. The role of Varroa and viral pathogens in the collapse of honeybee colonies: a modelling approach. *J. App. Ecol.* 38, 1082-1093.

Maul, V., Kramer, K., 1980. Formic acid for the treatment of varroa disease. [German] *Biene* 116, 292-295; 340-343; 343-344.

Maund, C., 2003. Provincial Apiarist Report for 2003, New Brunswick. 2003 Proceedings of the Canadian Association of Professional Apiculturists.

Moosbeckhofer, R., Pechhacker, H., Unterweger, H., Bandion, F., Heinrich Lenz, A., 2003. Investigations on the oxalic acid content of honey from oxalic acid treated and untreated bee colonies. *Eur. Food Res. Technol.* 217, 49-52.

Mutinelli, F., Baggio, A., Capolongo, F., Piro, R., Prandin, L., Biasion, L., 1997. A scientific note on oxalic acid by topical application for the control of varroosis. *Apidologie* 28, 461-462.

Ostermann, D.J., Currie, R.W., 2004. Effect of formic acid formulations on honey bee (*Hymenoptera: Apidae*) colonies and influence of colony and ambient conditions on formic acid concentration in the hive. *J. Econ. Entomol.* 97, 1500-1508.

Pettis, J.S., 2004. A scientific note on *Varroa destructor* resistance to coumaphos in the United States. *Apidologie* 35, 91-92.

Pettis, J.S., Shimanuki, H., 1999. A hive modification to reduce varroa populations. *Am. Bee J.* 139, 471-473.

Prandin, L., Dainese, N., Girardi, B., Damolin, O., Piro, R., Mutinelli, F., 2001. A scientific note on long-term stability of a home-made oxalic acid water sugar solution for controlling varroosis. *Apidologie* 32, 451-452.

Rice, N.D., Winston, M.L., Whittington, R., Higo, H.A., 2002. A comparison of release mechanisms for botanical oils to control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae) in colonies of honey bees (*Hymenoptera: Apidae*). *J. Econ. Entomol.* 95, 221-226.

Ritter, W., 1981. *Varroa* disease of the honeybee *Apis mellifera*. *Bee World* 62, 141-153.

Skinner, A., Tam, J., Bannister., R., 2005. Apistan and CheckMite Resistant *Varroa* mites in Ontario. Technology Transfer Program Final Report for 2004, March 2005.

Smith, D., Paulsen, G.M., Raguse, C.A., 1964. Extraction of Total Available Carbohydrates from Grass and Legume Tissue. *Plant Physiol.* 39, 960-962.

Spreafico, M., Rommana-Eordegh, F., Bernardinelli, I., Colombo, M., 2001. First detection of strains of *Varroa destructor* resistant to coumaphos. Results of laboratory test and field trials. *Apidologie* 32, 49-55.

Trouiller, J., 1998. Monitoring *Varroa jacobsoni* resistance to pyrethroids in Western Europe. *Apidologie* 29, 537-546.

Underwood, R.M., Currie, R.W., 2003. The effects of temperature and dose of formic acid on treatment efficacy against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), a parasite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Exp. Appl. Acarol.* 29, 303-313.

Wallner, K., 1999. Varroacides and their residues in bee products. *Apidologie* 30, 235-248.

Westcott, L.C., Winston, M.L., 1999. Chemical acaricides in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies; do they cause nonlethal effects. *Can. Entomol.* 131, 363-371.

Whittington, R., Winston, M.L., Melathopoulos, A.P., Higo, H.A., 2000. Evaluation of the botanical oils neem, thymol, and canola sprayed to control *Varroa jacobsoni* Oud. (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae) in colonies of honey bees (*Apis mellifera* L., *Hymenoptera: Apidae*). *Am. Bee J.* 140, 567-572.

Wilson, W.T., Collins, A.M., 1993. Formic acid or amitraz for spring or fall treatment of *Acarapis woodi*. *Am. Bee J.* 133, 871.

Wilson, W.T., Collins, A.M., 1991. Spring applications of formic acid for control of *Acarapis woodi*. *Am. Bee J.* 131, 785.

**Table 1.** Calendar of treatments.

± Sept 15	Fluvalinate (Apistan <sup>®</sup> ) (n=24)	Coumaphos (Check-mite <sup>®</sup> ) (n=24)	Formic acid (Mite Wipe) (n=24)	Thymol (Thymovar <sup>®</sup> ) (n=24)
± Oct 15	-	-	OA (n=8)	OA (n=8)
± Nov 15	OA (n=8)	OA (n=8)	OA (n=8)	OA (n=8)
± Dec 15	OA drip. (n=4)	OA drip.(n=4)	OA drip.(n=4)	OA drip.(n=4)
	OA sublim.(n=4)	OA sublim.(n=4)	OA sublim.(n=4)	OA sublim.(n=4)
± Apr 15	Coumaphos (n=24)	Coumaphos (n=24)	Coumaphos (n=24)	Coumaphos (n=24)

Note: All colonies received one of the four main treatments in mid-september (n=24 hives/beekeeper/treatment). Thereafter each group of 24 was subdivided in three groups of 8 colonies. Each subgroup received an OA treatment at a different date. Note that the coumaphos and fluvalinate groups did not receive an oxalic acid treatment in October since the strips were still in the hive. For the December OA treatment, this subgroup was splitted in two to test different methods of application (dripping vs sublimation) of OA. Finally all the hives received a coumaphos treatment the next spring to evaluate the efficacy of the fall treatments.

**Table 2.** Colony survival, syrup intake and consumption, and fall and spring bee populations according to the 4 main treatments applied in September.

Beekeeper	Main Treatment	Survival	Syrup intake in September (kg)	Syrup consumption , September to April (kg)	Fall Population (bee frames)	Spring Population (bee frames)
A	Thymol	16	17.2 ±1.0 (ab)	13.6 ±0.8	7.1 ±0.4 (ab)	5.1 ±0.4 (a)
	Formic acid	15	15.0 ±1.0 (a)	12.7 ±0.8	7.4 ±0.3 (b)	4.5 ±0.3 (a)
	Fluvalinate	16	17.3 ±1.3 (ab)	12.4 ±0.9	6.7 ±0.3 (a)	6.4 ±0.5 (b)
	Coumpahos	17	19.2 ±1.2 (b)	13.8 ±0.9	6.9 ±0.3 (ab)	6.2 ±0.5 (b)
	Total	64/96	17.1 ±0.6	13.1 ±0.4	7.0 ±0.2	5.6 ±0.2
B	Thymol	22 (ab)	9.8 ±0.8	12.3 ±0.4	8.7 ±0.2	5.9 ±0.3
	Formic acid	19 (a)	9.4 ±0.9	13.5 ±0.6	8.6 ±0.2	5.5 ±0.3
	Fluvalinate	19 (a)	10.1 ±0.9	13.9 ±0.6	8.6 ±0.2	5.7 ±0.3
	Coumpahos	24 (b)	11.2 ±0.9	13.9 ±0.6	8.5 ±0.1	6.1 ±0.2
	Total	84/96	10.1 ±0.4	13.4 ±0.3	8.6 ±0.1	5.8 ±0.1

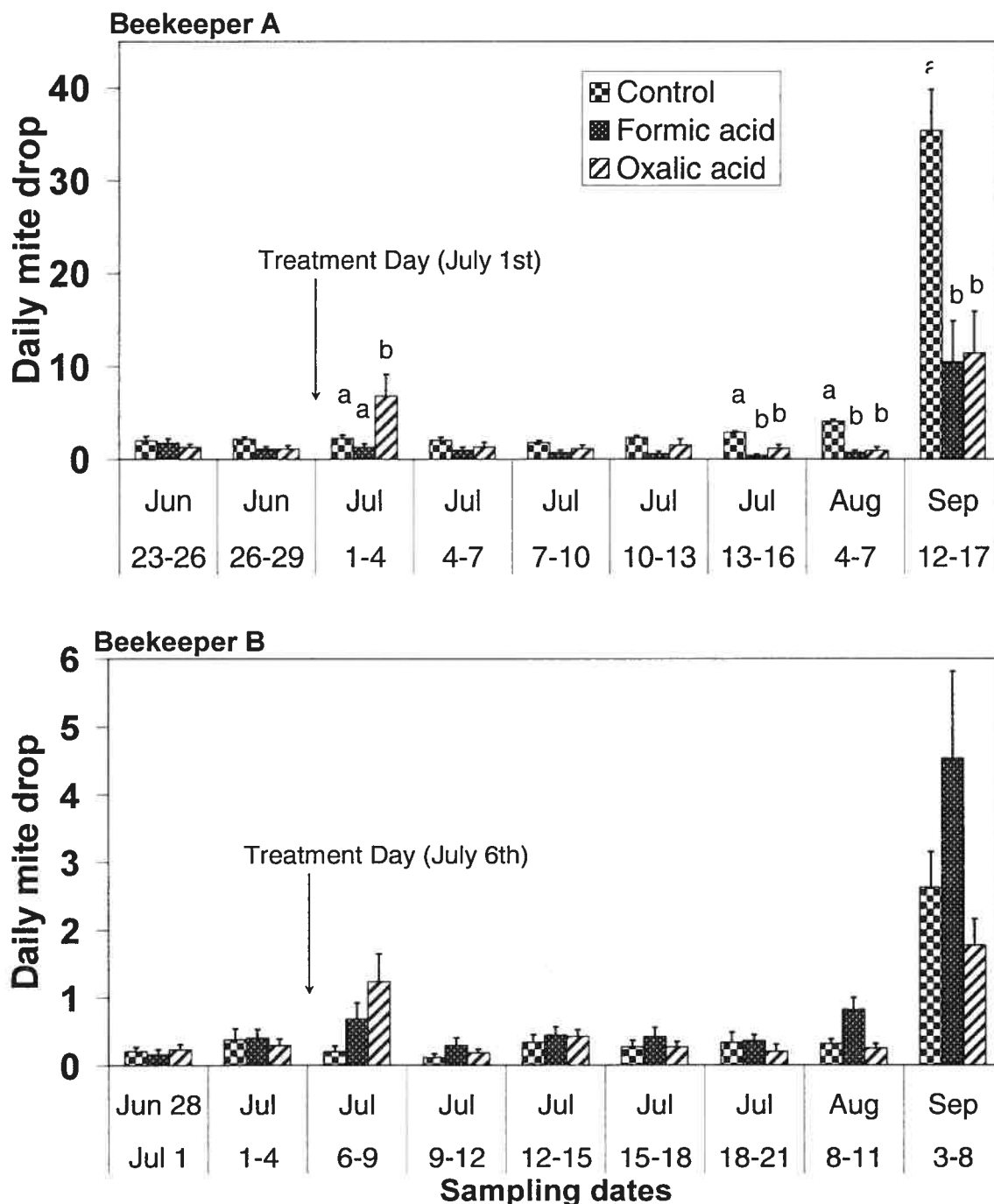
Note: Data for syrup consumption and spring population includes only data from surviving colonies. Lower case letters indicate significant differences between the 4 treatments. Values are means ±SE.

**Table 3.** Colony survival, syrup intake and consumption, and fall and spring bee populations according to the month of application of the OA treatment.

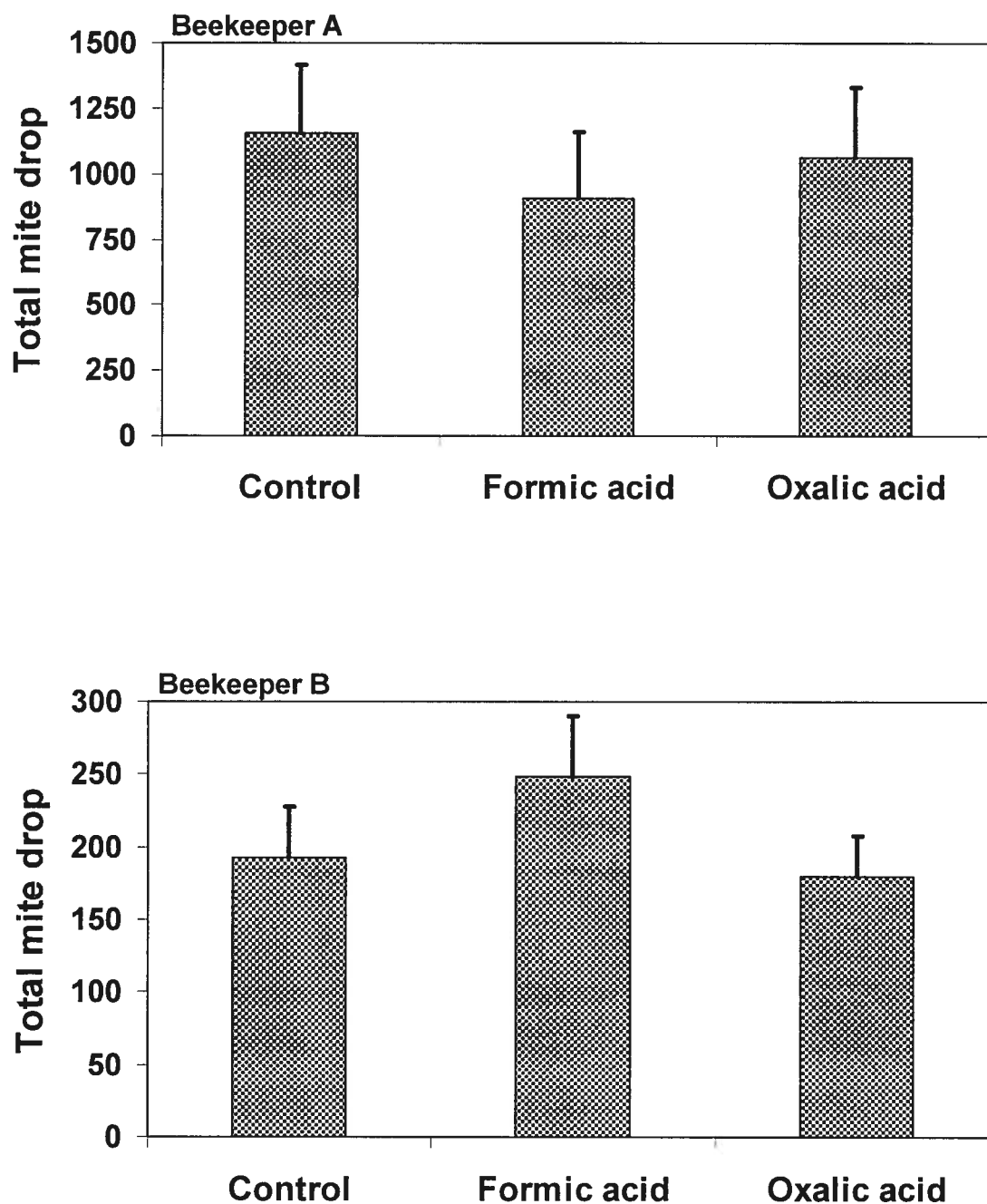
Beekeeper	Application date for OA	Survival	Syrup Intake in September (kg)	Syrup consumption, September to April (kg)	Fall Population (bee frames)	Spring Population (bee frames)
A	October	19 (a)	17.8 $\pm$ 1.1	11.2 $\pm$ 0.5 (a)	7.2 $\pm$ 0.3 (b)	6.0 $\pm$ 0.5 (b)
	November	16 (a)	16.2 $\pm$ 1.1	13.1 $\pm$ 0.5 (ab)	6.5 $\pm$ 0.3 (a)	4.9 $\pm$ 0.3 (a)
	December	29 (b)	17.4 $\pm$ 0.9	14.4 $\pm$ 0.6 (b)	7.5 $\pm$ 0.2 (b)	5.7 $\pm$ 0.4 (ab)
	total	64/96	17.1 $\pm$ 0.6	13.1 $\pm$ 0.3	7.0 $\pm$ 0.2	5.6 $\pm$ 0.2
B	October	27	11.5 $\pm$ 0.8 (b)	12.5 $\pm$ 0.5 (a)	8.8 $\pm$ 0.2	5.7 $\pm$ 0.3
	November	29	8.5 $\pm$ 0.5 (a)	14.0 $\pm$ 0.4 (b)	8.5 $\pm$ 0.1	5.7 $\pm$ 0.2
	December	28	10.4 $\pm$ 0.8 (ab)	13.7 $\pm$ 0.5 (ab)	8.5 $\pm$ 0.1	6.0 $\pm$ 0.2
	total	84/96	10.1 $\pm$ 0.4	13.4 $\pm$ 0.3	8.6 $\pm$ 0.1	5.8 $\pm$ 0.1

Note: Data for syrup consumption and spring population includes only data from surviving colonies. Lower case letters indicate significant differences between the different application months for the OA. Values are means  $\pm$  SE.

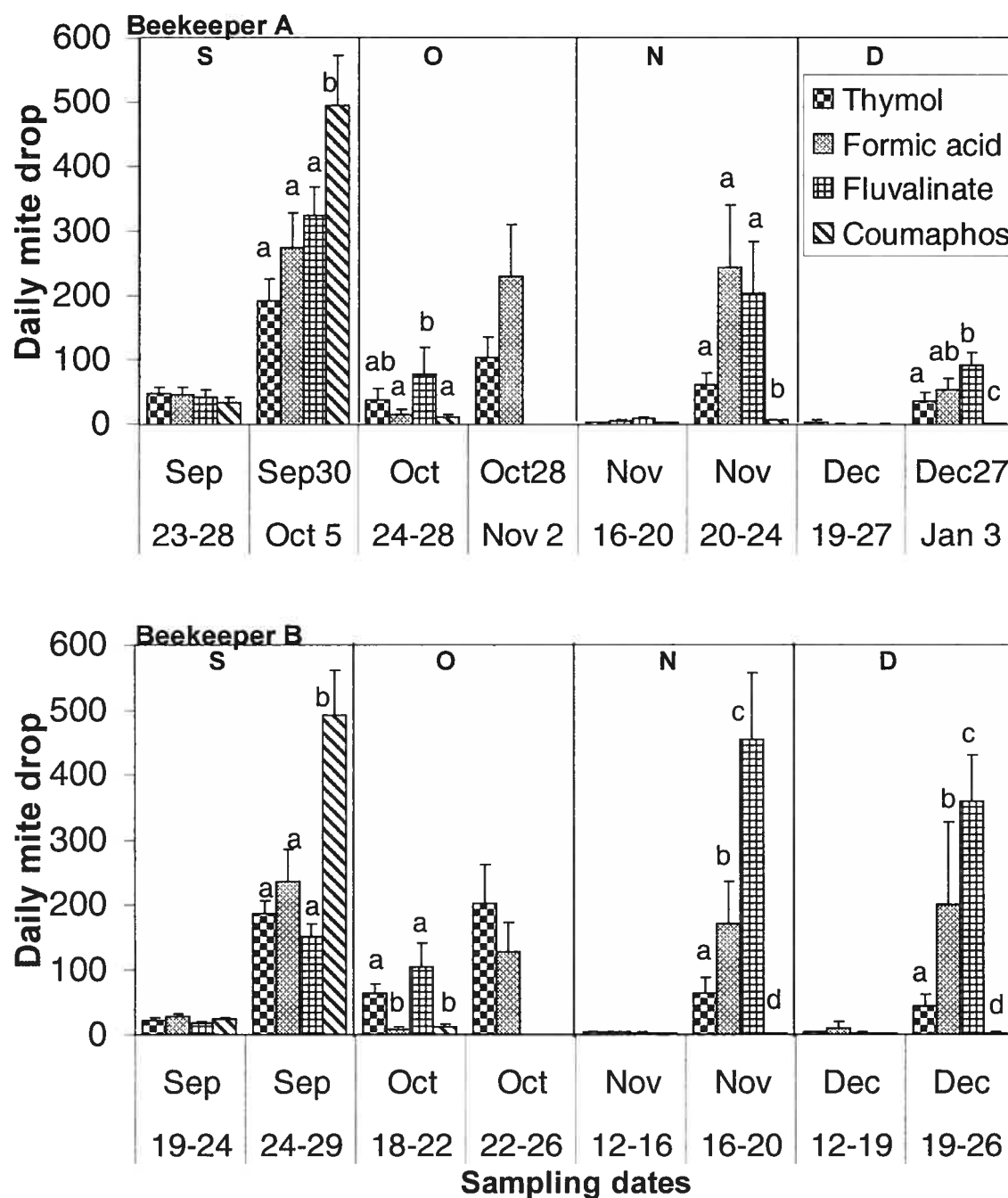




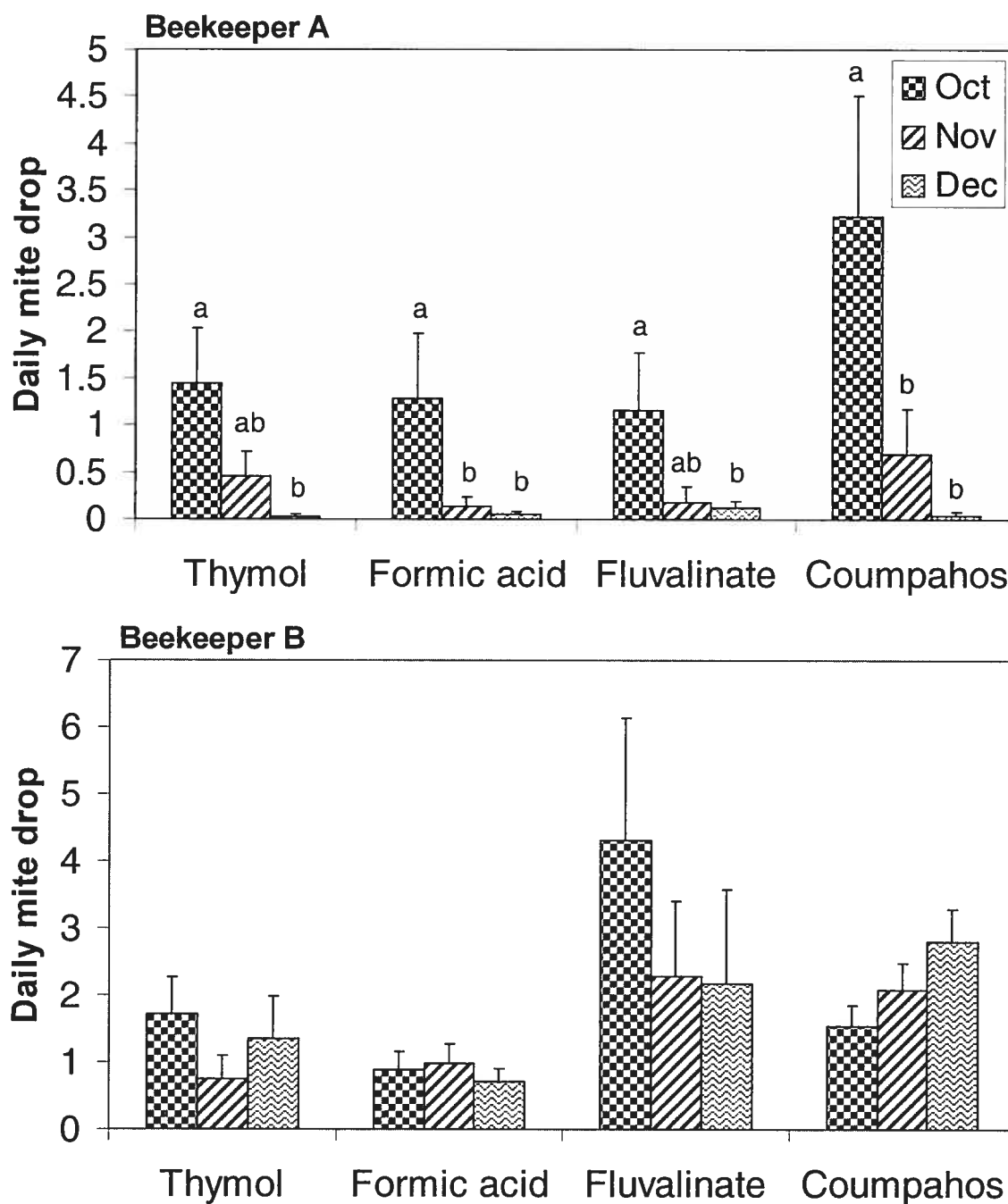
**Fig. 1.** Daily mite drop during sampling periods of 3 days before and after the organic acid treatments for beekeepers A and B. The oxalic acid treatment application consists of a 100 mL of 4% OA in sugar syrup. The formic acid treatment was one application with a Mite-Wipe evaporating pad with 35 mL of 65% formic acid. The lower case letters above the data indicate a significant difference between the treatments for the sampling period. No difference was found between the treatments at any sampling period for beekeeper B. Overall mite drop was higher for beekeeper A. Data are means  $\pm$ SE of 15 colonies.



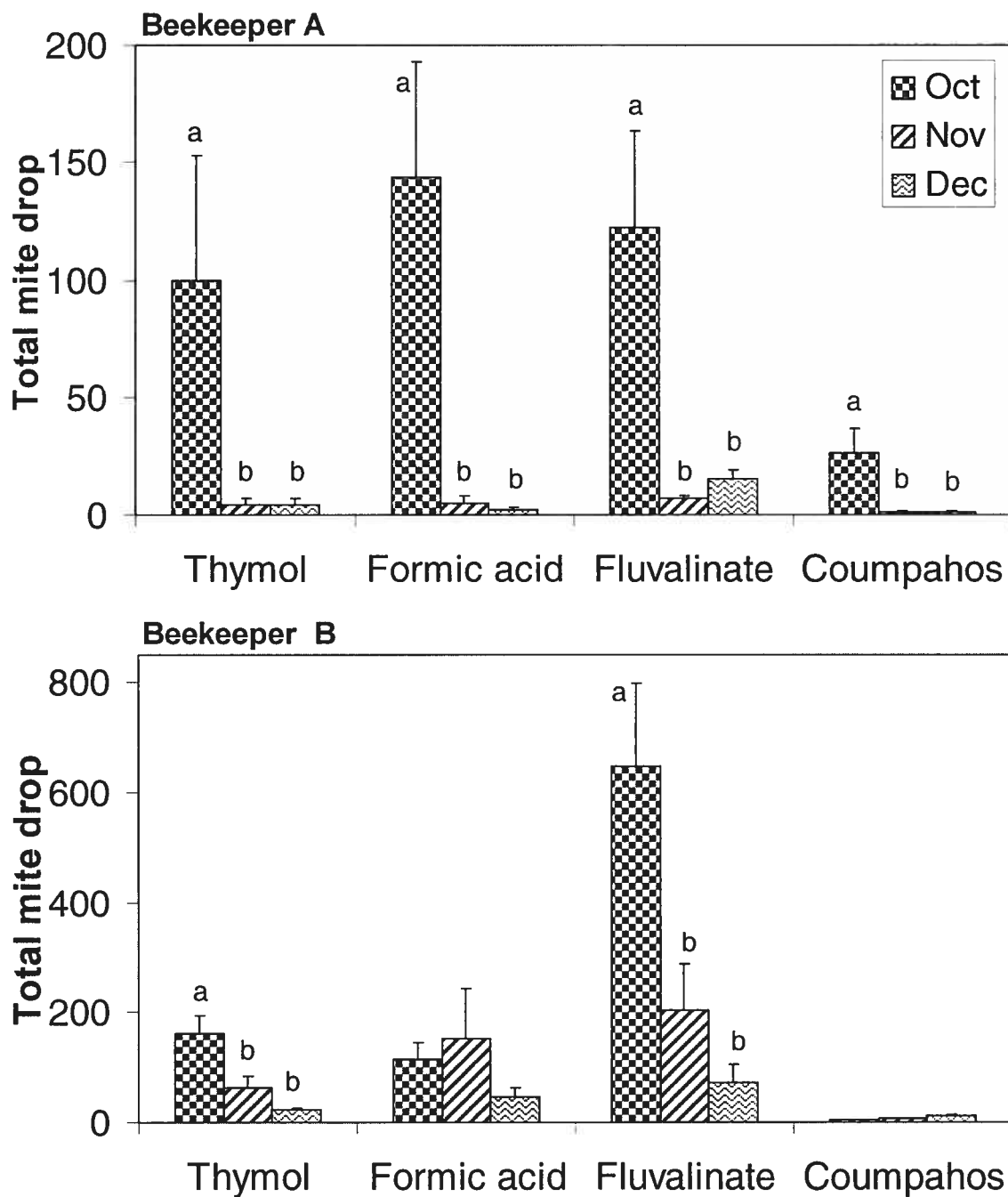
**Fig. 2.** Total mite drop during a 4 days period following the coumaphos control treatment at mid-september for beekeepers A and B. No significant difference between the treatment groups for both beekeepers was observed. Data are means  $\pm$ SE of 15 colonies.



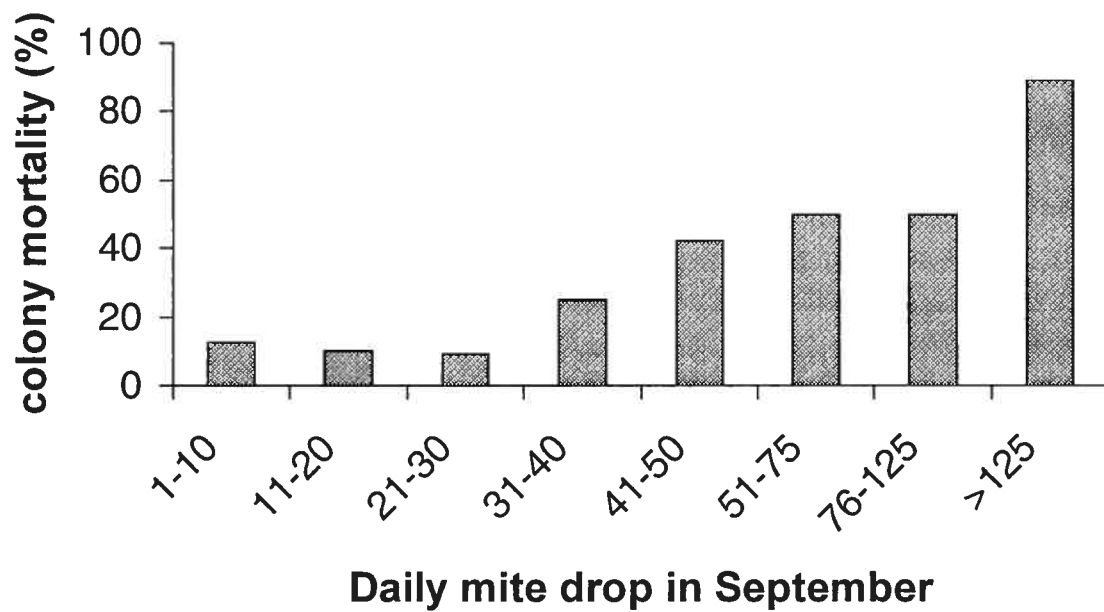
**Fig. 3.** Daily mite drop for each of the indicated sampling period for beekeepers A and B. Period S: Mite drop before and after the main treatment application in September ( $n=24/\text{treatment}$ ). Periods O, N and D: Mite drop before and after the October, November and December OA treatments ( $n=8/\text{treatment}$ ) (Note that the Fluvalinate and Coumaphos groups did not received OA in October) The formic acid group received three consecutive treatments in September but only the mite fall following the first treatment is presented. The mite following the two other applications were of the same order as the first one. Lower case letters indicate treatment significant differences within the sampling period. Data are means  $\pm$ SE of 24 (Sept) or 8 hives (Oct, Nov, Dec).



**Fig. 4.** Daily natural mite drop in April 2004 before the coumaphos control treatment according to the date at which the colonies received the OA treatment. Note that the fluvalinate and coumaphos groups did not receive an OA treatment in October. Lower case letters indicate significant differences. No significant difference was found for beekeeper B. Data are means  $\pm$ SE of the surviving colonies.



**Fig. 5.** Efficacy of the fall 2003 treatments measured by the total mite fall during 7 consecutive days following the coumaphos control treatment in April 2004. Note that the fluvalinate and coumaphos groups did not receive an OA treatment in october. Lower case letters indicate significant differences. Data are means  $\pm$ SE of the surviving colonies.



**Fig. 6.** Colony mortality (%) in April 2004 according to the natural daily mite fall in september 2003 prior to the 4 main treatments. All the colonies from both beekeepers and from all treatments and application dates for OA are included (n=192).

## DISCUSSION GÉNÉRALE

Ce projet de recherche comprend deux études réalisées en 2003-2004 et qui portaient sur l'évaluation de différentes stratégies de lutte contre *Varroa destructor* en réponse à l'apparition récente de la résistance de cet acarien au fluvalinate. Les deux études ont été réalisées chez deux apiculteurs professionnels de la Montérégie qui possèdent chacun plus de 500 ruches. Ils seront nommés apiculteur A et apiculteur B dans cette discussion. Tout d'abord, la première partie du mémoire présente des notions générales relatives à la problématique, tel que la situation actuelle de l'apiculture au Québec et au Canada ainsi que la biologie de l'abeille. Le texte décrit ensuite l'historique et la biologie de l'acarien lui-même et décrit les moyens de lutte présentement connus, ainsi que ceux qui sont actuellement à l'étude. Finalement, les résultats sont présentés sous forme d'article préparé en vue de publication scientifique. Une description sommaire des autres pathologies parfois associées à la varroase est présentée en annexe.

### *Projet été*

Le premier projet, réalisé à l'été 2003, a permis de montrer qu'un traitement en début de juillet avec de l'acide formique ou de l'acide oxalique était sécuritaire pour les abeilles mais n'a pas réduit la population automnale du parasite.

Le traitement à l'AO a causé une chute de *V. destructor* supérieure à la chute naturelle enregistrée avant les traitements, démontrant une certaine efficacité du produit. Toutefois, l'effet mesuré n'est apparu significatif ( $p < 0,05$ ) que chez l'apiculteur A seulement. Pour ce qui est de l'AF, aucun effet n'a pu être mesuré immédiatement après le traitement. Pourtant, la température ambiante lors du traitement était de 27°C chez l'apiculteur A et de 28,5°C chez l'apiculteur B. À ces températures, le traitement d'AF aurait dû être efficace (Underwood et Currie, 2003). Ces résultats suggèrent donc que la dose d'AF utilisée était trop faible pour que les vapeurs atteignent une concentration suffisante dans la ruche. La dose pourrait probablement être doublée (deux tampons au lieu d'un seul) pour obtenir une concentration plus élevée. Le fait que l'AF soit hydrophile (Wallner, 1999) peut aussi avoir réduit son efficacité lors du traitement

estival. À cette période de l'année, la ruche contient beaucoup de miel qui est encore très humide et ce dernier pourrait avoir absorbé une grande partie de l'humidité ambiante de la ruche.

En ce qui a trait à la tombée de *V. destructor*, aucune différence significative n'a pu être observée entre les groupes de traitement et le groupe témoin, quand le traitement au CM fut appliqué en septembre. Ceci indique que les traitements n'ont pas réduit les populations de *V. destructor* de façon assez importante pour qu'un effet puisse être observé à la fin de l'été. Sachant que l'AO a un effet limité en présence de couvain (Gregorc et Planinc, 2002; Gregorc et Poklukar, 2003), les résultats obtenus pour ce groupe ne sont pas surprenants. L'absence de différence entre les trois groupes n'est probablement pas attribuable à la dérive des abeilles puisque des efforts ont été faits pour éviter ce phénomène. En effet, les ruches étaient clairement identifiées avec des panneaux et des formes géométriques pour aider l'orientation des abeilles et les groupes de traitements ont été séparés en lots distants d'environ 10 mètres.

Selon différents auteurs (Catalayud et Verdu, 1995; Calis et coll., 1999), la population de *V. destructor* devrait doubler à chaque 30 jours durant l'été. Toutefois, dans la présente étude, la tombée naturelle semble être demeurée constante pendant les mois de juillet et août pour ensuite augmenter de façon surprenante entre la mi-août et septembre. En fait, pour cette période, la chute naturelle de *V. destructor* a augmenté par un facteur de 8,7 en 41 jours chez l'apiculteur A et par un facteur de 8,4 en 28 jours chez l'apiculteur B. À la lumière de ces résultats, il serait intéressant, dans une prochaine étude, de faire un suivi tout au long d'une saison, afin d'établir une courbe de croissance des populations de *V. destructor* pour le Québec.

Les acides oxalique et formique se retrouvent de façon naturelle dans le miel. Les concentrations naturelles d'AO peuvent varier de façon importante avec des valeurs rapportées entre 5 et 239,5 mg/kg (Bogdanov et coll., 2002; Moosbeckhofer et coll., 2003; Mutinelli et coll., 1997). Le seuil à partir duquel cet acide est détectable dans le goût du miel a été fixé entre 300 et 900 mg/kg par Mutinelli et coll. (1997). Dans la présente étude, tous les échantillons de miel récoltés suite aux traitements avaient une concentration d'AO de moins de 20 mg/kg, valeur qui représente la limite de détection de



la méthode d'analyse utilisée. L'utilisation de l'AO durant la saison ne semble donc pas présenter de risque pour les résidus.

Les concentrations naturelles d'AF retrouvées dans le miel se situent entre 17 et 284 mg/kg (Bogdanov et coll., 2002). Dans la présente étude, le miel des ruches traitées à l'AF avait une concentration d'AF plus grande que le groupe témoin. Les traitements ont provoqué des augmentations allant de 24 à 64 mg/kg. Les concentrations absolues étaient de 51 et 149 mg/kg pour les apiculteurs A et B, respectivement. Ces valeurs sont en deçà de la limite de détection par le goût, établie entre 150 et 600 mg/kg (Bogdanov et coll., 1999). L'utilisation d'une dose plus forte ou une répétition du traitement pourrait présenter un problème pour les résidus dans le cas de l'AF.

### *Projet automne*

Tout d'abord, mentionnons qu'aucune des combinaisons de traitement utilisées dans ce projet a causé de tort aux colonies d'abeilles, indépendamment de la date d'application de l'AO. En effet, aucune mortalité anormale n'a été observée.

Tout juste après l'application des traitements de septembre, les colonies ont été nourries avec du sirop en préparation pour l'hivernage. Les abeilles devaient récolter le sirop à partir de barils distribués dans les ruchers. Par des prises de poids des ruches à différents intervalles, il était possible de vérifier si les traitements avaient une influence sur la prise de sirop durant l'automne, et par la suite, sa consommation durant l'hiver. Les ruches ayant reçu de l'AF ont consommé légèrement moins de sirop que les autres, mais cette différence n'est pas statistiquement significative. Les traitements subséquents à l'AO n'ont pas pu influencer la prise de sirop puisque les barils ont été retirés avant la première application du produit. L'utilisation de cette technique pour nourrir les abeilles peut avoir contribué à la dérive des abeilles d'une colonie à l'autre. Pour éviter ce biais, il aurait été préférable de nourrir les abeilles avec des distributeurs individuels placés sur chacune des ruches. Cette méthode demande plus de travail mais aurait été plus appropriée dans le cas d'une étude comme-ci.

La consommation de sirop par les abeilles durant l'hiver n'a pas été influencée par les quatre traitements du mois de septembre. Toutefois, les colonies traitées à l'AO en octobre ont consommé moins de sirop durant l'hiver ( $p < 0,05$ ). Ceci est peut-être

explicable par le fait que les abeilles traitées en novembre et en décembre ont été incitées à consommer plus de sirop à cause du dérangement causé par ces traitements tardifs.

Durant la période pré-traitement, aucune différence significative n'a été trouvée entre les différents groupes, tant au niveau des populations d'abeilles et que d'acariens, indiquant une distribution homogène des colonies dans les groupes de traitement. Durant les cinq jours d'échantillonnage suivant l'application des traitements de septembre, le CM a provoqué une plus grande tombée de *V. destructor* que les autres produits, indiquant un effet létal rapide sur les acariens. Le traitement à l'AF consistait en trois applications de 35 mL répétées à cinq jours d'intervalle. Les trois applications ont provoqué des tombées d'acariens similaires. Il est probable que cette méthode d'application pourrait permettre d'obtenir des niveaux de vapeur d'AF plus constants que la méthode utilisant une seule application de 250 mL tel qu'employé par Elzen et coll. (2004). Elle serait aussi plus sécuritaire pour les abeilles et le couvain qui, selon ces auteurs, peuvent être affectés à ces doses.

En octobre, alors qu'il était temps de traiter le premier tiers des ruches à l'AO, les bandes de FV et de CM étaient encore présentes dans les ruches et ces dernières n'ont donc pas reçu d'AO. Durant la période pré-traitement, les ruches de ces groupes avaient une tombée naturelle de *V. destructor* plus élevée ( $p < 0,05$ ) que celles des deux autres groupes, laissant croire que ces produits étaient encore actifs à ce moment. Quand les traitements à l'AO furent appliqués, les ruches des groupes AF et TH présentaient des tombées naturelles similaires, signalant un effet acaricide comparable des deux produits.

En novembre, pour le deuxième tiers des ruches, aucune différence n'a été trouvée entre les tombées de *V. destructor* des quatre groupes, pour la période de pré-traitement. Suite au traitement à l'AO, chez l'apiculteur A, seulement les ruches du groupe CM avaient une tombée plus faible que les autres. Ceci démontre une fois de plus la grande efficacité de ce produit. Chez l'apiculteur B, tous les groupes étaient différents les uns des autres ( $p < 0,05$ ). Le groupe FV avait la tombée la plus grande, indiquant que ce produit a été le moins efficace, confirmant ainsi le phénomène de résistance. Les ruches des groupes FA et TH avaient des tombées moyennes alors que celles du groupe CM avaient une tombée très faible.

En décembre, date de traitement pour le dernier tiers des ruches, les résultats étaient très similaires à ceux de novembre.

Ce n'est qu'en avril suivant que la véritable efficacité des différentes combinaisons de traitements a pu être évaluée, suite à un traitement contrôle au CM. Pour l'apiculteur A, toutes les colonies ayant reçu de l'AO en octobre étaient significativement ( $p < 0,05$ ) plus infestées que celles traitées en novembre et en décembre. Les traitements faits au mois de décembre ont été de 84 à 90% plus efficaces que ceux réalisés en octobre. Ceci s'explique par la présence de couvain au mois d'octobre. En effet, il est connu que l'acide oxalique n'est efficace qu'en absence de couvain (Gregorc et Planinc, 2002; Gregorc et Poklukar, 2003).

En assumant que la population de *V. destructor* devrait doubler à tous les 30 jours (Catalatyud et Verdu, 1995; Calis et coll., 1999), une population réduite à 50 individus au printemps devrait permettre à la colonie d'abeilles de se développer normalement jusqu'à l'automne suivant, moment où la population de *V. destructor* devrait atteindre environ 1 600 individus. L'efficacité des traitements a donc été évaluée en fonction de ce nombre.

Chez les deux apiculteurs, le traitement d'automne au CM a permis de réduire la population printanière de *V. destructor* à moins de 50 individus, indépendamment d'un traitement à l'AO ou non, démontrant sa grande efficacité pour une première utilisation.

Chez l'apiculteur A, les populations printanières de *V. destructor* ont été réduites à moins de 50 individus pour toutes les ruches ayant reçu de l'AO en novembre ou en décembre, peu importe le produit utilisé en septembre. Ceci démontre que l'AO utilisée en absence de couvain est d'une grande efficacité. Il faut toutefois prendre en considération le fait que cet apiculteur avait subi un haut taux de mortalité dans ses colonies, seulement 66,7% des colonies ayant survécu à l'hiver. Les colonies les plus infestées sont toutes mortes chez cet apiculteur, ce qui rend ces résultats moins concluants. Par contre, chez l'apiculteur B, où le taux de survie hivernal était de 87,5%, seulement les colonies des groupes TH et AF, ayant subi un traitement à l'AO en décembre, ont atteint l'efficacité recherchée. Exceptionnellement, des colonies des traitements au CM avaient, elles aussi, moins de 50 individus au printemps 2004. Ces résultats montrent qu'un traitement à l'AF ou au TH, réalisé en septembre et suivi d'un

traitement à l'AO réalisé en absence de couvain, pourrait remplacer un traitement au CM et assurer la survie des colonies.

Chez les deux apiculteurs, la survie des colonies était plus grande dans le groupe traité au CM. Cependant, la différence n'était significative que chez l'apiculteur B. Ceci est probablement dû au fait que ce produit a été le plus efficace à réduire la quantité de *V. destructor* présents lors de l'hivernage. De la même façon, mais cette fois seulement chez l'apiculteur A, les ruches ayant reçu de l'AO en décembre affichant un taux de survie plus élevé que celles traitées en octobre et novembre. Encore une fois, cela est probablement attribuable au fait que les traitements de décembre ont été plus efficaces pour réduire les populations d'acariens. Normalement, les traitements réalisés en novembre devraient être aussi efficaces que ceux réalisés en décembre puisqu'il ne devrait plus rester de couvain à cette date. Cependant, au cours de l'automne 2003, il y a eu une période chaude durant le mois d'octobre et les reines ont recommencé à pondre. La présence inhabituelle d'une faible quantité de couvain au mois de novembre explique probablement l'efficacité légèrement réduite comparativement aux traitements de décembre.

Les ruches ayant une tombée naturelle de 50 acariens par jour ou plus ont eu un taux de survie de 50% ou moins, peu importe la combinaison de traitements appliquée. Ce résultat est intéressant car il permet d'établir une référence concrète pour les apiculteurs. Ces résultats sont par ailleurs en accord avec ceux publiés par Delaplane et Hood (1999) qui ont estimé que le seuil d'infestation létal dans le sud-est des États-Unis se situait aux alentours de 3 500 acariens dans une colonie de 25 000 à 35 000 abeilles. Selon cette étude, ceci correspondrait à une tombée naturelle de 59 à 187 acariens par jour, ou à une infestation de 12%. Dans la présente étude, les colonies ayant une tombée naturelle de plus de 125 acariens par jour sont mortes dans une proportion de 89%. Une mortalité de 10% des colonies est considérée normale par les apiculteurs du Québec. Dans l'étude présentée ici, les ruches ayant une tombée naturelle de moins de 30 individus de *V. destructor* par jour sont mortes dans une proportion de 10%. Ces résultats suggèrent que le seuil de survie des ruches pour le Québec se situerait aux alentours de 1 500-2 000 acariens. Il semble logique de penser qu'en raison des hivers plus longs qui sévissent dans nos régions, ce seuil soit plus bas ici qu'au sud-est des États-Unis.

Pour les traitements d'AO réalisés en décembre, deux méthodes d'application ont été testées. La méthode par égouttement a été utilisée pour les traitements d'octobre et de novembre alors qu'en décembre la moitié des ruches ont reçu un traitement avec la méthode par évaporation ou sublimation. Les deux méthodes ont donné des résultats similaires. Les données ont donc été compilées et analysées ensemble. La méthode par égouttement est plus simple et plus sécuritaire pour l'apiculture et devrait être privilégiée.

Les problèmes de constance avec le TH rapportés par Imdorf et coll. (1999) n'ont pas été observés dans cette étude, probablement à cause de la formulation de la gaufre Thymovar® qui permet un relâchement constant du produit.

Les ruches traitées en septembre avec du FV et du CM n'ont pas reçu d'AO en octobre puisque les bandes de plastique contenant les produits doivent demeurer dans la ruche pendant 42 jours. Comme le FV a une efficacité mitigée à cause de la résistance, il est possible d'isoler le taux d'efficacité du traitement à l'AO en comparant les ruches du groupe FV, qui n'ont pas reçu d'AO, avec celles ayant reçu de l'AO en décembre. Ces dernières avaient un taux d'infestation plus bas de 89% au printemps 2004 lors du traitement contrôle fait avec le CM.

En établissant un ratio entre la tombée naturelle journalière de *V. destructor* au printemps 2004 et la tombée journalière obtenue suite au traitement contrôle au CM, il est possible, suite à un échantillonnage, d'obtenir une indication du taux d'infestation au printemps. Ce ratio était de 87,1 chez l'apiculteur A et de 94,7 chez l'apiculteur B. Autrement dit, pour chaque acarien tombé de façon naturelle au mois d'avril, il y aurait entre 85 et 95 acariens dans la ruche. Il est à noter que les ruches du groupe CM ont été exclues du calcul à cause de leur taux d'infestation très bas.

Ces observations ont aussi permis de confirmer l'efficacité du TH de l'AF contre *Acarapis woodi*, un autre acarien qui lui s'attaque aux voies respiratoires des abeilles.

La réalisation de ce travail devrait permettre aux apiculteurs québécois de trouver des solutions alternatives à l'utilisation de pesticides de synthèse dans la lutte contre *V. destructor*. Les conclusions de ces projets devraient aussi donner à l'agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) l'information nécessaire pour permettre l'homologation de produits alternatifs pour les apiculteurs.

Le fait de travailler avec des apiculteurs professionnels plutôt qu'avec des ruchers expérimentaux a permis d'augmenter l'effectif et d'obtenir des résultats significatifs. Cependant, lors du projet d'automne, les apiculteurs ne pouvaient se permettre de ne pas traiter un lot complet de ruche, il a donc été impossible d'avoir un groupe témoin. Cela a compliqué l'interprétation des résultats. Les traitements ont dû être comparés entre-eux plutôt que d'être comparés à un témoin ce qui n'a pas permis d'obtenir des calculs d'efficacité comme ceux rapportés par d'autres chercheurs. Pour cette raison, il est difficile de comparer les résultats obtenus avec ceux d'autres chercheurs. Il n'en demeure pas moins que ce projet a permis de vérifier que les produits alternatifs peuvent avantageusement remplacer les produits de synthèses dans les ruchers du Québec.

## CONCLUSION

Les résultats du projet d'été montrent que les traitements à l'AF et à l'AO réalisés au mois de juillet ont été sécuritaires pour les abeilles mais n'ont pas permis de réduire les populations de *V. destructor* à l'automne suivant. La concentration d'AF dans le miel était légèrement supérieure dans les ruches traitées avec ce produit (24 à 64 mg/kg). De nouvelles études utilisant des dosages plus élevés seront réalisées entre 2005 et 2007 afin d'évaluer le potentiel d'un traitement d'été.

Les résultats du projet d'automne montrent qu'un traitement avec du TH ou de l'AF, réalisé en septembre et couplé avec un traitement à l'AO réalisé en absence de couvain en fin d'automne, est aussi efficace qu'un traitement avec un acaricide chimique, lorsque le dosage et les dates de traitements sont bien choisis. Comme les *V. destructor* de la région étudiée ont développé une résistance au FV et que les traitements au CM ne pourront être utilisés que pendant quelques années encore avant de voir apparaître une résistance, il semble qu'une combinaison judicieuse de produits organiques offre une solution d'avenir pour le contrôle du parasite. De nouvelles études d'automne seront réalisées entre 2005 et 2007 pour évaluer le potentiel de l'AF, de l'AO et du TH comme traitements alternatifs aux acaricides chimiques.

## SOURCES DOCUMENTAIRES

Al-Ghamdi, A., Hoopingarner, R. 2004. Development of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in the honey bee, *Apis mellifera* L., in Michigan, USA, and a comparison of diagnostic methods for detection of the mites. Arab Gulf Journal of Scientific Research. 22(1): 1-8.

Ali, M.A., Macedo, P.A., Wu, J., Ellis, M.D. 2003. Evaluation of three concentrations of tebufenpyrad for the control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). Journal of Economic Entomology 96(2): 259-263.

Anderson, D.L. 2000. Variation in the parasitic bee mite *Varroa jacobsoni* Oud. Apidologie 31(2): 281-292.

Anderson, D.L., Fuchs, S. 1998. Two genetically distinct populations of *Varroa jacobsoni* with contrasting reproductive abilities on *Apis mellifera*. Journal of Apicultural Research 37(2): 69-78.

Anderson, D.L. Trueman, J.W.H. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. Experimental and Applied Acarology 24(3): 165-189.

Ardeshir A., Ebadi, R., Tahmasebi, G. 2002. Laboratory evaluation of some plant essences to control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). Experimental and Applied Acarology 27: 319-327.

Arechavaleta-Velasco, M.E., Guzman-Novoa, E. 2001. Relative effect of four characteristics that restrain the population growth of the mite *Varroa destructor* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. Apidologie 32(2): 157-174.

Aumeier, P. 2001. Bioassay for grooming effectiveness towards *Varroa destructor* mites in Africanized and Carniolan honey bees. Apidologie 32(1): 81-90.

Bach, J.C. 1995. For best mite control results follow Apistan label directions. American Bee Journal 135(10): 685-686.

Baggio, A. Arculeo, P. Nanetti, A. Marinelli, E. Mutinelli, F. 2004. Field trials with different thymol-based products for the control of varroosis. American Bee Journal. 144 (5): 395-400.

Baxter, J.R., Ibarra, J., Wilson, W.T., Arther, R.G., Kellerby, J.D., Stewart, J. 1999. Amitraz or coumaphos efficacy tests in Guatemala for control of *Varroa jacobsoni* in honey bees. Southwestern Entomologist 24: 309-313.



- Biasiolo, A. 1992. Lack of allozyme variability among *Varroa* mite populations. *Experimental and Applied Acarology* 16(4): 287-294.
- Bienefeld, K. 1996. Factors affecting duration of the postcapping period in brood of the honey bee (*Apis mellifera carnica*). *Journal of Apicultural Research* 35(1): 11-17.
- Bienefeld, K., Haberl, M., Radtke, J. 1998. Does the genotype of honeybee brood influence the attractiveness for *Varroa jacobsoni* and/or the reproduction of this parasite? *Hereditas* (Landskrona) 129(2): 125-129.
- Bienefeld, K., Radtke, J., Zautke, F. 1995. Influence of thermoregulation within honey bee colonies on the reproduction success of *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 26(4): 329-331.
- Bienefeld, K., Zautke, F., Pronin, D., Mazeed, A., 1999. Recording the proportion of damaged *Varroa jacobsoni* Oud. in the debris of honey bee colonies (*Apis mellifera*). *Apidologie* 30(4): 249-256.
- Boecking, O., Ritter, W. 1994. Current status of behavioural tolerance of the honey bee *Apis mellifera* to the mite *Varroa jacobsoni*. *American Bee Journal* 134: 689-694.
- Boecking, O., Spivak, M. 1999. Behavioral defenses of honey bees against *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 30(2/3): 141-158.
- Bogdanov, S., Charriere, J.D., Imdorf, A., Kilchenmann, V., Fluri, P. 2002. Determination of residues in honey after treatments with formic and oxalic acid under field conditions. *Apidologie* 33(4): 399-409.
- Bogdanov, S., Imdorf, A., Kilchenmann, V. 1998. Residues in wax and honey after Apilife VAR® treatment. *Apidologie* 29: 513-524.
- Bogdanov, S., Kilchenmann, V., Imdorf, A. 1998. Acaricide residues in some bee products. *Journal of Apicultural Research*. 37: 57-67.
- Bogdanov, S., Kilchenmann, V., Fluri, P., Bühler, U., Lavanchy P. 1999. Influence of organic acids and components of essential oils in honey taste. *American Bee Journal* 139: 61-63.
- Bolli, H.K., Bogdanov, S., Imdorf, A., Fluri, P. 1993. Action of formic acid on *Varroa jacobsoni* (Oud.) and the honey bee (*Apis mellifera* L.) [Zur Wirkungsweise von Ameisensäure bei *Varroa jacobsoni* Oud. und der Honigbiene (*Apis mellifera* L.)]. *Apidologie* 24: 51-57.
- Boot, W.J., Calis, J.N.M., Beetsma, J. 1993. Invasion of *Varroa jacobsoni* into honey bee brood cells: a matter of chance or choice? *Journal of Apicultural Research* 32: 167-174.

Boot, W.J., Calis, J.N.M., Beetsma, J. 1995. Does time spent on adult bees affect reproductive success of *Varroa* mites? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 75(1): 1-7.

Boot, W.J., Calis, J.N.M., Beetsma, J., Dong Minh Hai, Nguyen Kim Lan, Tran Van Toan, Le Quang Trung, Nguyen Hung Minh. 1999. Natural selection of *Varroa jacobsoni* explains the different reproductive strategies in colonies of *Apis cerana* and *Apis mellifera*. *Experimental and Applied Acarology* 23(2): 133-144.

Boot, W.J., Driessen, R. G., Calis, J.N.M., Beetsma, J. 1995. Further observations on the correlation between attractiveness of honey bee brood cells to *Varroa jacobsoni* and the distance from larvae to cell rim. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 76(3): 223-232.

Boot, W. J., Nguyen Quang Tan, Pham Cong Dien, Huan, L.van, Dung, N.van, Le Tu Long, Beetsma, J. 1997. Reproductive success of *Varroa jacobsoni* in brood of its original host, *Apis cerana*, in comparison to that of its new host, *A. mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Bulletin of Entomological Research* 87(2): 119-126.

Boot, W.J., Sisselaar, D.J.A., Calis, J.N.M., Beetsma, J. 1994. Factors affecting invasion of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) into honeybee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), brood cells. *Bulletin of Entomological Research* 84(1): 3-10.

Bowen-Walker, P.L., Gunn, A. 2001. The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 101(3): 207-217.

Bowen-Walker, P.L., Martin, S.J., Gunn, A. 1999. The transmission of deformed wing virus between honeybees (*Apis mellifera* L.) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Journal of Invertebrate Pathology*. 73(1): 101-106.

Bowen-Walker, P.L., Martin, S.J., Gunn, A. 1997. Preferential distribution of the parasitic mite, *Varroa jacobsoni* Oud. on overwintering honeybee (*Apis mellifera* L.) workers and changes in the level of parasitism. *Parasitology* 114(2): 151-157.

Božič, J., Valentičič, T. 1995. Quantitative analysis of social grooming behavior of the honey bee *Apis mellifera carnica*. *Apidologie* 26(2): 141-147.

Bozina, K.D. 1961. How long does the queen live? *Pchelovodstvo* 38: 13.

Brdsgaard, C.J., Hansen, H., Hansen, C.W. 1997. Effect of lactic acid as the only control method of varroa mite populations during four successive years in honeybee colonies with a brood-free period. *Apiacta* 32(3): 81-88.

Büchler, R., Drescher, W. 1990. Variance and heritability of the capped developmental stage in European *Apis mellifera* L. and its correlation with increased *Varroa jacobsoni* Oud. infestation. *Journal of Apicultural Research* 29(3): 172-176.

Bulletin zoosanitaire 1993. RAIZO. (Réseau d'Alerte et d'Information Zoosanitaire) Ministère de l'Agriculture, Pêcheries et Alimentation du Québec (MAPAQ). 2003. No.7, 6 juillet.

Calatayud, F., Verdu, M.J. 1993. Hive debris counts in honeybee colonies: a method to estimate the size of small populations and rate of growth of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. (Mesostigmata: Varroidae). *Experimental & Applied Acarology* 17: 889-894.

Calderon, R.A., Ortiz, R.A., Arce, H.G., Van Veen, J.W., Quan, J. 2000. Effectiveness of formic acid on varroa mortality in capped brood cells of africanized honey bees. *Journal of Apicultural Research* 39: 177-179.

Calderone, N.W. 2000. Effective fall treatment of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) with a new formulation of formic acid in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in the northeastern United States. *Journal of Economic Entomology* 93(4): 1065-1075.

Calderone, N.W. 1999. Evaluation of formic acid and a thymol-based blend of natural products for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology* 92(2): 253-260.

Calderone, N.W., Kuenen, L. P. S. 2001. Effects of western honey bee (*Hymenoptera: Apidae*) colony, cell type, and larval sex on host acquisition by female *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Journal of Economic Entomology* 94(5): 1022-1030.

Calderone, N.W., Lin, S. 2001. Behavioural responses of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) to extracts of larvae, cocoons and brood food of worker and drone honey bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Physiological Entomology* 26(4): 341-350.

Calderone, N.W., Nasr, M.E. 1999. Evaluation of a formic acid formulation for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in a temperate climate. *Journal of Economic Entomology* 92(3): 526-533.

Claderone, N.W., Spivak, M. 1995. Plant extracts for control of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of the Western honey bee (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology* 88: 1211-1215.

Calderone, N.W., Wilson, W.T., Spivak, M. 1997. Plant extracts used for control of the parasitic mites *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology* 90: 1080-1086.

Calatayud, F., Verdu, M.J., 1995. Number of adult female mites *Varroa jacobsoni* Oud. on hive debris from honey bee colonies artificially infested to monitor mite population increase (Mesostigmata: Varroidae). *Experimental and Applied Acarology* 19: 181-188.

Calis, J.N.M., Boot, W.J., Beetsma, J., Van Den Eijnde, J.H.P.M., De Ruijter, A., Van Der Steen, J.J.M. 1999. Effective biotechnical control of varroa: applying knowledge on brood cell invasion to trap honey bee parasites in drone brood. *Journal of Apicultural Research* 38(1/2): 49-61.

Chang, S.Y., Hoopingarner, R.A. 1991. Relative importance of feral honey bees in apple pollination. *Acta Horticulturae* 288: 239-243.

Cobey, S. 2001. The *Varroa* species complex: identifying *Varroa destructor* and new strategies of control. *American Bee Journal* 141(3): 194-196.

Colin, M.E., Vandame, R., Jourdan, P., Di Pasquale, S. 1997. Fluvalinate resistance of *Varroa jacobsoni* Oudemans (Acari: Varroidae) in Mediterranean apiaries of France. *Apidologie* 28(6): 375-384.

Collison, C.H., Fulton, H.R., Tomasko, M., Steinhauer, J. 1991. Equating ether-roll sampling results with total number of varroa mites, *Varroa jacobsoni*, present. *American Bee Journal* 131(12): 773-774.

Corrêa-Marques, M.H., De Jong, D. 1998. Uncapping of worker bee brood, a component of the hygienic behavior of Africanized honey bees against the mite *Varroa jacobsoni* Oudemans. *Apidologie* 29(3): 283-289.

Corrêa-Marques, M.H., Medina, L.M., Martin, S.J., Jong, D. de. 2003. Comparing data on the reproduction of *Varroa destructor*. *Genetics and Molecular Research*. 2(1): 1-6.

Danka, R.G., Villa, J.D. 1998. Evidence of autogrooming as a mechanism of honey bee resistance to tracheal mite infestation. *Journal of Apicultural Research* 37: 39-46.

Davidson, G., Phelps, K., Sunderland, K.D., Pell, J.K., Ball, B.V., Shaw, K.E., Chandler, D. 2003. Study of temperature-growth interactions of entomopathogenic fungi with potential for control of *Varroa destructor* (Acari: Mesostigmata) using a nonlinear model of poikilotherm development. *Journal of Applied Microbiology* 94(5): 816-825.

De Guzman, L.I., Delfinado-Baker, M. 1995. Identification of a new species of *Varroa* associated with *Apis koschevnikovi* in Borneo. *American Bee Journal* 135(12): 827.

De Guzman, L.I., Rinderer, T.E., Lancaster, V.A. 1995. A short test evaluating larval attractiveness of honey bees to *Varroa jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research* 34(2): 89-92.

- De Guzman, L.I., Rinderer, T.E. 1999. Identification and comparison of *Varroa* species infesting honey bees. *Apidologie* 30(2/3): 85-95.
- De Guzman, L.I., Rinderer, T.E., Stelzer, J.A. 1999. Occurrence of two genotypes of *Varroa jacobsoni* Oud. in North America. *Apidologie* 30(1): 31-36.
- De Guzman, L.I., Rinderer, T.E., Steizer, J.A. 1997. DNA evidence of the origin of *Varroa jacobsoni* Oudemans in the Americas. *Biochemical Genetics* 35: 327-335.
- De Jong, D., Gonçalves, L.S. 1981. The *Varroa* problem in Brazil. *American Bee Journal* 121: 186-189.
- De Jong, D. 1996. Africanized honey bees in Brazil, forty years of adaptation and success. *Bee World* 77(2): 67-70.
- De Jong, D., Roma, D.de A., Goncalves, L.S. 1982. A comparative analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honeybees. *Apidologie* 13(3): 297-303.
- Delaplane, K.S. 1995. Effects of terramycin antibiotic and apistan acaricide on colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested with *Varroa jacobsoni* (Parasitiformes: Varroidae). *Journal of Economic Entomology* 88(5): 1206-1210.
- Delaplane, K.S., Hood, W.M. 1999. Economic threshold for *Varroa jacobsoni* Oud. in the southeastern USA. *Apidologie*. 30(5): 383-395.
- Delfinado-Baker, M. 1988. Variability and biotypes of *Varroa jacobsoni* Oudemans. *American Bee Journal* 128(8): 567-568.
- Delfinado-Baker, M. Aggarwal, K. 1987. A new *Varroa* (Acari: Varroidae) from the nest of *Apis cerana* (Apidae). *International Journal of Acarology* 13(4): 233-237.
- Delfinado-Baker, M., Houck, M.A. 1989. Geographic variation in *Varroa jacobsoni* (Acari, Varroidae): application of multivariate morphometric techniques. *Apidologie* 20(4): 345-358.
- Donzé, G., Fluri, P., Imdorf, A. 1998a. A look under the cap: the reproductive behavior of *Varroa* in the capped brood of the honey bee. *American Bee Journal* 138(7): 528-533.
- Donzé, G., Guerin, P.M. 1994. Behavioural attributes and parental care of *Varroa* mites parasitizing honeybee brood. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 34: 305-319.
- Donzé, G., Herrmann, M., Bachofen, B., Guerin, P.M. 1996. Effect of mating frequency and brood cell infestation rate on the reproductive success of the honeybee parasite *Varroa jacobsoni*. *Ecological Entomology* 21(1): 17-26.

Donzé, G., Schnyder-Candrian, S., Bogdanov, S., Diehl, P.A., Guerin, P.M., Kilchenman, V., Monachon, F. 1998b. Aliphatic alcohols and aldehydes of the honey bee cocoon induce arrestment behavior in *Varroa jacobsoni* (Acari: Mesostigmata), an ectoparasite of *Apis mellifera*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 37(2): 129-145.

Duay, P.R., De Jong, D., Engels, W. 2003. Weight loss in drone pupae infested by *Varroa destructor* mites. Apidologie 34(1): 61-65.

Duay, P.R., De Jong, D., Engels, W. 2002. Decreased flight performance and sperm production in drones of the honey bee (*Apis mellifera*) slightly infested by *Varroa destructor* mites during pupal development. Genetics and Molecular Research 1(3): 227-232.

Eguaras, M., Marcangeli, J., Fernandez, N.A. 1994. Influence of 'parasitic intensity' on *Varroa jacobsoni* Oud. reproduction. Journal of Apicultural Research 33(3): 155-159.

Eguaras, M., Palacio, M.A., Faverin, C., Basualdo, M., Hoyo, M.L. del, Velis, G., Bedascarrasbure, E. 2003. Efficacy of formic acid in gel for *Varroa* control in *Apis mellifera* L.: importance of the dispenser position inside the hive. Veterinary Parasitology. 111(2/3): 241-245.

Eischen, F.A. 1998. Trials (and tribulations) with formic acid for varroa control. American Bee Journal 138(10): 734-735.

Ellis, M.D., Baxendale, F.P. 1994. Comparison of formic acid sampling with other methods used to detect varroa mites (*Varroa jacobsoni* Oud.) and mite distribution within colonies in Nebraska. Bee Science 3(3): 139-144.

Elzen, P.J., Baxter, J.R., Spivak, M., Wilson, W.T. 2000. Control of *Varroa jacobsoni* Oud. resistant to fluvalinate and amitraz using coumaphos. Apidologie. 31(3): 437-441.

Elzen, P.J., Baxter, J.R., Spivak, M., Wilson, W.T. 1999a. Amitraz resistance in varroa: new discovery in North America. American Bee Journal 139(5): 362.

Elzen, P.J., Eischen, F.A., Baxter, J.R., Elzen, G.W., Wilson, W.T. 1999b. Detection of resistance in US *Varroa jacobsoni* Oud. (Mesostigmata: Varroidae) to the acaricide fluvalinate. Apidologie 30(1): 13-17.

Elzen, P.J., Eischen, F.A., Baxter, J.B., Pettis, J., Elzen, G.W., Wilson, W.T. 1998. Fluvalinate resistance in *Varroa jacobsoni* from several geographic locations. American Bee Journal 138: 674-676.

Elzen, P.J., Westervelt, D., Lucas, R. 2004. Formic acid treatment for control of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) and safety to *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) under Southern United States conditions. Journal of Economical Entomology 97: 1509-1512.

Fakhimzadeh, K. 2001. Effectiveness of confectioner sugar dusting to knock down *Varroa destructor* from adult honey bees in laboratory trials. *Apidologie* 32(2): 139-148.

Fakhimzadeh, K. 2000. A rapid field and laboratory method to detect *Varroa jacobsoni* in the honey bee (*Apis mellifera*). *American Bee Journal* 140(9): 736-739.

Faucon, J.P., Drajnudel, P., Fleche, C. 1996. Varroose : mise en évidence de la résistance du parasite aux acaricides par la méthode de « détermination du temps léthal moyen ». *Apidologie* 27(2): 105-110.

Faucon, J.P., Drajnudel, P., Fleche, C. 1995. Mise en évidence d'une diminution de l'efficacité de l'Apistan utilisé contre la varroose de l'abeille (*Apis mellifera*). *Apidologie* 26(4): 291-296.

Feldlaufer, M. 1999. Tau-fluvalinate content of Apistan<sup>®</sup> strips. *Apidologie* 30(1): 37-41.

Feldlaufer, M.F., Pettis, J.S., Kochansky, J.P., Shimanuki, H. 1997. A gel formulation of formic acid for the control of parasitic mites of honey bees. *American Bee Journal* 137(9): 661-663.

Ferrer-Dufol, M., Moreno-Manera, C., Martinez-Vinuales, A.I., Sanchez-Acedo, C., Gracia-Salinas, M.J. 1995a. Field trials of treatments against *Varroa jacobsoni* using fluvalinate and flumethrin strips in honey bee colonies containing sealed brood. *Journal of Apicultural Research* 34(3): 147-152.

Ferrer-Dufol, M., Moreno-Manera, C., Martinez-Vinuales, A.I., Sanchez-Acedo, C., Gracia-Salinas, M.J. 1995b. Diagnosis of *Varroa jacobsoni* in field conditions. *Apicultura* 10: 23-31.

Fletcher, D.J.C. 1978. The African bee, *Apis mellifera adansonii*, in Africa. *Annual Review of Entomology* 23: 151-171.

Flores, J.M., Ruiz, J.A., Ruz, J.M., Puerta, F., Bustos, M. 2001. Hygienic behaviour of *Apis mellifera iberica* against brood cells artificially infested with varroa. *Journal of Apicultural Research* 40(1): 29-34.

Floris, I., Cabras, P., Garau, V.L., Minelli, E.V., Satta, A., Troullier, J. 2001a. Persistence and effectiveness of pyrethroids in plastic strips against *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and mite resistance in a Mediterranean area. *Journal of Economic Entomology* 94(4): 806-810.

Floris, I., Satta, A., Garau, V.L., Melis, M., Cabras, P., Aloul, N. 2001b. Effectiveness, persistence, and residue of amitraz plastic strips in the apiary control of *Varroa destructor*. *Apidologie* 32(6): 577-585.

- Fries, I., Aarhus, A., Hansen, H., Korpela, S. 1991. Comparison of diagnostic methods for detection of low infestation levels of *Varroa jacobsoni* in honey-bee (*Apis mellifera*) colonies. *Experimental and Applied Acarology* 10: 279-287.
- Fries, I., Camazine, S., Sneyd, J. 1994. Population dynamics of *Varroa jacobsoni*: a model and a review. *Bee World* 75(1): 5-28.
- Fries, I., Perez-Escala, S. 2001. Mortality of *Varroa destructor* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies during winter. *Apidologie* 32(3): 223-229.
- Fries, I., Wei, H., Shi, W., Chen, S. J., 1996. Grooming behaviour and damaged mites (*Varroa jacobsoni*) in *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica*. *Apidologie* 27: 3-11.
- Fuchs, S. 1990. Preference for drone brood cells by *Varroa jacobsoni* Oud in colonies of *Apis mellifera carnica*. *Apidologie* 21(3): 193-199.
- Fuchs, S., Langenbach, K. 1989. Multiple infestation of *Apis mellifera* L. brood cells and reproduction in *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 20(3): 257-266.
- Fuchs, S., Long LeTu, Anderson, D. L. 2000. A scientific note on the genetic distinctness of *Varroa* mites on *Apis mellifera* L. and on *Apis cerana* Fabr. in North Vietnam. *Apidologie* 31(3): 459-460.
- Fukuda, H., Ohtani, T. 1977. Survival and life span of drone honeybees. *Researches on Population Ecology* 19(1): 51-68.
- Garedew, A., Lamprecht, I., Schmolz, E., Schricker, B. 2002. The varroacidal action of propolis: A laboratory assay. *Apidologie* 33: 1-50.
- Gilliam, M., Taber, S., III Lorenz, B.J., Prest, D.B. 1988. Factors affecting development of chalkbrood disease in colonies of honey bees, *Apis mellifera*, fed pollen contaminated with *Ascosphaera apis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 52: 314-325.
- Gilliam, M., Taber, S., III Richardson, G.V. 1983. Hygienic behavior of honey bees in relation to chalkbrood disease. *Apidologie* 14(1): 29-39.
- Goetz, B., Koeniger, N. 1993. The distance between larva and cell opening triggers broodcell invasion by *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 24(1): 67-72.
- Gregorc, A., Planinc, I., 2001. Acaricidal effect of oxalic acid in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie* 32: 333-340.
- Gregorc, A., Planinc, I. 2002. The control of *Varroa destructor* using oxalic acid. *Veterinary Journal* 163(3): 306-310.



Gregorc, A., Planinc, I., 2004. Dynamics of falling varroa mites in honeybee (*Apis mellifera*) colonies following oxalic acid treatments. *Acta Vet. Brno.* 73: 385-391.

Gregorc, A., Poklukar, J. 2003. Rotenone and oxalic acid as alternative acaricidal treatments for *Varroa destructor* in honeybee colonies. *Veterinary Parasitology* 111(4): 351-360.

Griffiths, D.A., Gray, J., Pegazzano, F. 1983. Varroa - the acarologists' view. *Varroa jacobsoni* Oud. affecting honey bees: present status and needs. A.A. Balkema for the Commission of the European Communities, Rotterdam, Netherlands. 79-83.

Gruszka, J. 1988. Evaluation of the ether sampling method to detect low level infestations of *Varroa jacobsoni*. *Beelines May*: 8-14.

Guerra Jr, J.C.V., Goncalves, L.S., De Jong, D. 2000. Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) are more efficient at removing worker brood artificially infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oudemans than are Italian bees or Italian/Africanized hybrids. *Genetics and Molecular Biology* 23(1): 89-92.

Harbo, J. 2000. Heating adult honey bees to remove *Varroa jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research* 39: 181-182.

Harbo, J., Harris, J. 1999. Selecting honey bees for resistance to *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 30: 183-196.

Haydak, M. H. 1945. The language of the honeybee. *American Bee Journal* 85: 316-317.  
Heath, L. A. F. 1982a. Development of chalk brood in a honeybee colony: a review. *Bee World* 63(3): 119-130.

Herbert, E.W., Witherell, P.C.Jr., Bruce, W.A., Shimanuki, H. 1989. Evaluation of six methods of detecting *Varroa* mites in beehives, including the experimental use of acaricidal smokes containing fluvalinate or amitraz. *American Bee Journal* 129(9): 605-608.

Higes, M., Meana, A., Suarez, M., Llorente, J. 1999. Negative long-term effects on bee colonies treated with oxalic acid against *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 30(4): 289-292.

Hoppe, H., Ritter, W. 1986. The possibilities and limits of thermal treatment as a biotechnical method of fighting Varroa. *Apidologie* 17(4): 374-376.

Houle, É. 2005. Centre de recherche en sciences animales de Deschambault. 120-A, chemin du Roy, Deschambault (Québec), G0A 1S0. emile.houle@crsad.qc.ca.

Hung, A.C.F., Shimanuki, H., Knox, D.A. 1996. The role of viruses in bee parasitic mite syndrome. *American Bee Journal* 136(10): 731-732.

Imdorf, A., Bogdanov, S., Ochoa, R.I., Calderone, N.W., 1999. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. *Apidologie* 30: 209-228.

Imdorf, A., Charriere, J.D., Kilchenmann, V., Bogdanov, S., Fluri, P., 2003. Alternative strategy in Central Europe for the control of *Varroa destructor* in honey bee colonies. *Apiacta* 38: 258-285.

Imdorf, A., Charriere, J.D., Bachofen, B., 1997. Efficiency checking of the *Varroa jacobsoni* control methods by means of oxalic acid. *Apiacta* 32: 89-91.

Issa, M.R.C. 1989. Enzyme patterns in *Varroa* and *Apis* from Brazil and Germany. *Apidologie* 20(6): 506-508.

Janmaat, A.F., Winston, M.L. 2000. Removal of *Varroa jacobsoni* infested brood in honey bee colonies with differing pollen stores. *Apidologie* 31(3): 377-385.

Kanga, L.H.B., James, R.R., Boucias, D.G. 2002. *Hirsutella thompsonii* and *Metarhizium anisopliae* as potential microbial control agents of *Varroa destructor*, a honey bee parasite. *Journal of Invertebrate Pathology* 81: 175-184.

Kerr, W.E., Gonçalves, L., Blota, L.F., Maciel, H. 1970. Biologia comparada entre as abelhas italianas (*Apis mellifera ligustica*), africanas (*Apis mellifera adansonii*) e suas híbridas. *Proceedings of the first Brazilian Congress of Apiculture* 151-185.

Kolmes, S.A. 1989. Grooming specialists among worker honey bees, *Apis mellifera*. *Animal Behaviour* 37(6): 1048-1049.

Korpela, S., Aarhus, A., Fries, I., Hansen, H. 1992. *Varroa jacobsoni* Oud. in cold climates: population growth, winter mortality and influence on the survival of honey bee colonies. *Journal of Apicultural Research* 31(3/4): 157-164.

Kraus, B. 1994. Factors influencing host choice of the honey bee parasite *Varroa jacobsoni* Oud. *Experimental and Applied Acarology* 18(7): 435-443.

Kraus, B. 1993. Preferences of *Varroa jacobsoni* for honey bees (*Apis mellifera* L.) of different ages. *Journal of Apicultural Research* 32(2): 57-64.

Kraus, B., Hunt, G. 1995. Differentiation of *Varroa jacobsoni* Oud populations by random amplification of polymorphic DNA (RAPD). *Apidologie* 26(4): 283-290.

Kraus, B., Koeniger, N., Fuch, S. 1986. Recognition of bees of specific age by *Varroa jacobsoni* and preference for nurse bees in summer colonies. *Apidologie* 17(3): 257-266.

Kraus, B., Page, R.E. 1995. Effect of vegetable oil on *Varroa jacobsoni* and honey bee colonies. *Bee Science* 3(4): 157-161.

Kraus, B., Velthuis, H.H.W. 1997. High humidity in the honey bee (*Apis mellifera* L.) brood nest limits reproduction of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Naturwissenschaften* 84(5): 217-218.

Kuenen, L.P.S., Calderone, N.W. 1997. Transfers of *Varroa* mites from newly emerged bees: preferences for age- and function-specific adult bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Behavior* 10(2): 213-228.

Kuenen, L.P.S., Calderone, N.W. 1998. Positive anemotaxis by *Varroa* mites: responses to bee odour plumes and single clean-air puffs. *Physiological Entomology* 23(3): 255-264.

Kuenen, L.P.S., Calderone, N.W. 2000. *Varroa* mite infestations in elevated honey bee brood cells: effects of context and caste. *Journal of Insect Behavior*. 13(2): 201-215.

Le Conte, Y., Arnold, G., Trouiller, J., Masson, C., Chappe, B., Ourisson, G. 1989. Attraction of the parasitic mite *Varroa* to the drone larvae of honey bees by simple aliphatic esters. *Science* 245: 638-639.

Le Conte, Y., Bruchou, C., Benhamouda, K., Gauthier, C., Cornuet, J. M. 1994. Heritability of the queen brood post-capping stage duration in *Apis mellifera mellifera* L. *Apidologie* 25(6): 513-519.

Le Conte, Y., Colin, M.E., Paris, A., Crauser, D. 1998. Oil spraying as a potential control of *Varroa jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research* 37(4): 291-293.

LeDoux, M.N., Pernal, S.F., Higo, H.A., Winston, M.L. 2000. Development of a bioassay to test the orientation behaviour of the honey bee ectoparasite, *Varroa jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research* 39: 47-54.

Lindberg, C.M., Melathopoulos, A.P., Winston, M.L. 2000. Laboratory evaluation of miticides to control *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae), a honey bee (Hymenoptera: Apidae) parasite. *Journal of Economic Entomology* 93: 189-198.

Lodesani, M., Colombo, M., Spreafico, M. 1995. Ineffectiveness of Apistan treatment against the mite *Varroa jacobsoni* Oud in several districts of Lombardy (Italy). *Apidologie* 26(1): 67-72.

Lodesani, M., Vecchi, M.A., Tommasini, S., Bigliardi, M. 1996. A study on different kinds of damage to *Varroa jacobsoni* in *Apis mellifera ligustica* colonies. *Journal of Apicultural Research* 35(2): 49-56.

Louveaux, J. 1966. Les modalités de l'adaptation des abeilles (*Apis mellifica* L.) au milieu naturel. *Annales de l'Abeille* 9: 323-350.

Macedo, P.A., Wu, J., Ellis, M.D. 2002. Using inert dusts to detect and assess varroa infestations in honey bee colonies. *Journal of Apicultural Research* 41(1/2): 3-7.

Martin, S.J. 1995. Reproduction of *Varroa jacobsoni* in cells of *Apis mellifera* containing one or more mother mites and the distribution of these cells. *Journal of Apicultural Research* 34(4): 187-196.

Martin, S.J. 1997. Life and death of varroa. Varroa! fight the mite. International Bee Research Association, Cardiff, UK. 3-10.

Martin, S.J., Elzen, P.J., Rubink, W.R. 2002. Effect of acaricide resistance on reproductive ability of the honey bee mite *Varroa destructor*. *Experimental & Applied Acarology* 27(3): 195-207.

Martin, S., Hogarth, A., van Breda, J., Perret, J. 1998. A scientific note on *Varroa jacobsoni* Oudemans and the collapse of *Apis mellifera* L. colonies in the United Kingdom. *Apidologie* 29: 369-370.

Martin, S., Holland, K., Murray, M. 1997. Non-reproduction in the honeybee mite *Varroa jacobsoni*. *Experimental and Applied Acarology* 21: 539-549.

Martin, S.J., Kemp, D. 1997. Average number of reproductive cycles performed by *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Journal of Apicultural Research* 36(3/4): 113-123.

Martin, C., Provost, E., Roux, M., Bruchou, C., Crauser, D., Clement, J.L., Le Conte, Y. 2001. Resistance of the honey bee, *Apis mellifera* to the acarian parasite *Varroa destructor*: behavioural and electroantennographic data. *Physiological Entomology* 26: 362-370.

Mathieu, L., Faucon, J. P. 2000. Changes in the response time for *Varroa jacobsoni* exposed to amitraz. *Journal of Apicultural Research* 39(3/4): 155-158.

Maund, C. 2003. Provincial Apiarist Report for 2003, New Brunswick. 2003 Proceedings of the Canadian Association of Professional Apiculturists.

Maver, L., Poklucar, J. 2003. Coumaphos and amitraz residues in Slovenian honey. *Apiacta* 38: 54-57.

Message, D., Goncalves, L.S. 1995. Effect of the size of worker brood cells of Africanized honey bees on infestation and reproduction of the ectoparasite mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 26(5): 381-386.

Milani, N. 1999. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to acaricides. *Apidologie* 30(2/3): 229-234.

- Milani, N. 2001. Activity of oxalic and citric acids on the mite *Varroa destructor* in laboratory assays. *Apidologie* 32(2): 127-138.
- Milani, N., Vedova, G. D. 2002. Decline in the proportion of mites resistant to fluvalinate in a population of *Varroa destructor* not treated with pyrethroids. *Apidologie* 33(4): 417-422.
- Milum, V.G. 1947. Grooming dance and associated activities of the honey bee. III *Acad. Sci. Trans.* 40: 194-196.
- Ministère de l'Agriculture, Pêcheries et Alimentation du Québec (MAPAQ). 2002. <http://www.mapaq.gouv.qc.ca/Fr/Productions/md/statistiques/donneessectorielles/>
- Moosbeckhofer, R., Fabsicz, M., Kohlich, A. 1988. Investigations on the correlation between reproduction rate of *Varroa jacobsoni* and infestation rate of honeybee colonies. *Apidologie* 19(2): 181-207.
- Moosbeckhofer, R., Pechhacker, H., Unterweger, H., Bandion, F., Heinrich Lenz, A., 2003. Investigations on the oxalic acid content of honey from oxalic acid treated and untreated bee colonies. *European Food Research and Technology* 217 : 49-52.
- Mutinelli, F., Baggio, A., Capolongo, F., Piro, R., Prandin, L., Biasion, L. 1997. A scientific note on oxalic acid by topical application for the control of varroosis. *Apidologie* 28(6): 461-462.
- Nanetti, A. 2005. Communication personnelle. Centre suisse de recherches apicoles. <http://www.apis.admin.ch/>
- Nation, J.L., Sanford, M.T., Milne, K. 1992. Cuticular hydrocarbons from *Varroa jacobsoni*. *Experimental and Applied Acarology* 16(4): 331-344.
- Nazzi, F., Milani, N., Della Vedova, G., Nimis, M. 2001. Semiochemicals from larval food affect the locomotory behaviour of *Varroa destructor*. *Apidologie* 32(2): 149-155.
- Ostermann, D.J., Currie, R.W. 2004. Effect of formic acid formulations on honey bee (*Hymenoptera: Apidae*) colonies and influence of colony and ambient conditions on formic acid concentration in the hive. *Journal of Economic Entomology* 97(5): 1500-1508.
- Ostiguy, N., Sammataro, D. 2000. A simplified technique for counting *Varroa jacobsoni* Oud. on sticky boards. *Apidologie* 31: 707-716.
- Peng, Y.S.C., Fang, Y., Xu, S., Ge, L. 1987a. The resistance mechanism of the Asian honey bee, *Apis cerana* Fabr., to an ectoparasitic mite, *Varroa jacobsoni* Oudemans. *Journal of Invertebrate Pathology* 49(1): 54-60.

Peng, Y.S.C., Fang, Y., Xu, S., Ge, L., Nasr, M.E. 1987b. Response of foster Asian honeybee (*Apis cerana* Fabr.) colonies to the brood of European honeybee (*Apis mellifera* L.) infested with parasitic mite, *Varroa jacobsoni* Oudemans. Journal of Invertebrate Pathology 49: 259-264.

Peng, Y.S.C., Zhou, X., Kaya, H.K. 2002. Virulence and site of infection of the fungus, *Hirsutella thompsonii*, to the honey bee ectoparasitic mite, *Varroa destructor*. Journal of Invertebrate Pathology 81: 185-195.

Pérez-Santiago, G., Otero-Colina, G., Mota Sanchez, D., Ramirez Guzman, M.E., Vandame, R. 2000. Comparing effects of three acaricides on *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) using two application techniques. Florida Entomologist 83(4): 468-476.

Pettis, J.S. 2004. A scientific note on *Varroa destructor* resistance to coumaphos in the United States. Apidologie 35: 91-92.

Pettis, J.S., Shimanuki, H. 1999. A hive modification to reduce varroa populations. American Bee Journal 139(6): 471-473.

Prandin, L., Dainese, N., Girardi, B., Damolin, O., Piro, R., Mutinelli, F. 2001. A scientific note on long-term stability of a home-made oxalic acid water sugar solution for controlling varroosis. Apidologie 32(5): 451-452.

Rath, W. 1992. The key for *Varroa*: The drones of *Apis cerana* and their cell cap. American Bee Journal. 132: 329-331.

Rath, W. 1999. Co-adaptation of *Apis cerana* Fabr. and *Varroa jacobsoni* Oud. Apidologie 30(2/3): 97-110.

Rath, W., Drescher, W. 1990. Response of *Apis cerana* Fabr. towards brood infested with *Varroa jacobsoni* Oud. and infestation rate of colonies in Thailand. Apidologie 21(4): 311-321.

Rinderer, T.E., Delatte, G.T., De Guzman, L.I., Williams, J.L., Stelzer, J.A., Kuznetsov, V.N. 1999. Evaluations of the *Varroa*-resistance of honey bees imported from Far-Eastern Russia. American Bee Journal 139: 287-290.

Rinderer, T.E., Guzman, L.I. de., Harper, C. 2004a. The effects of co-mingled Russian and Italian honey bee stocks and sunny or shaded apiaries on varroa mite infestation level, worker bee population and honey production. American Bee Journal 144(6): 481-485.

Rinderer, T., Guzman, L. de, Sylvester, H.A. 2004b. Re-examination of the accuracy of a detergent solution for varroa mite detection. American Bee Journal 144(7): 560-562.

- Ritter, W. 1981. Varroa disease of the honeybee *Apis mellifera*. Bee World 62(4): 141-153.
- Rosenkranz, P. 1993. A bioassay for the investigation of host-finding behaviour in *Varroa jacobsoni*. Apidologie 24(5): 486-488.
- Rosenkranz, P., Engels, W. 1994. Infertility of *Varroa jacobsoni* females after invasion into *Apis mellifera* worker brood as a tolerance factor against varroatosis. Apidologie 25(4): 402-411.
- Rosenkranz, P., Tewarson, N.C. 1992. Experimental infection of *Apis cerana indica* worker brood with *Varroa* females. Apidologie 23(4): 365-367.
- Rosenkranz, P., Tewarson, N.C., Singh, A., Engels, W. 1993. Differential hygienic behaviour towards *Varroa jacobsoni* in capped worker brood of *Apis cerana* depends on alien scent adhering to the mites. Journal of Apicultural Research 32(2): 89-93.
- Ruijter, A. de. 1982. Tobacco smoke can kill *Varroa* mites. Bee World 63(3): 138.
- Ruijter, A. de. 1987 Reproduction of *Varroa jacobsoni* during successive brood cycles of the honeybee. Apidologie 18(4): 321-326.
- Ruijter, A. de., Eijnde, J. van den. 1984. Detection of *Varroa* mite in the Netherlands using tobacco smoke. Bee World 65(4): 151-154.
- Ruttner, F. 1975. African races of honeybees. Proceedings of the XXVth International Apicultural Congress, Grenoble. Apimondia, Romania: 325-344.
- Ruttner, F., Maul, V. 1983. Experimental analysis of reproductive interspecies isolation of *Apis mellifera* L. and *Apis cerana* Fabr. Apidologie 14(4): 309-327.
- Santillan-Galicia, M.T., Otero-Colina, G., Romero-Vera, C., Cibrian-Tovar, J. 2002. *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) infestation in queen, worker, and drone brood of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). Canadian Entomologist 134(3): 381-390.
- Shaw, K., Davidson, G., Clark, S.J., Ball, B.V., Pell, J.K., Chandler, D., Sunderland, K.D. 2002. Laboratory bioassays to assess the pathogenicity of mitosporic fungi to *Varroa destructor* (Acari: Mesostigmata), an ectoparasitic mite of the honeybee, *Apis mellifera*. Biological Control 24(3): 266-276.
- Skinner, A., Tam, J., Bannister., R. 2005. Apistan and CheckMite resistant *Varroa* mites in Ontario. Technology Transfer Program Final Report for 2004, March 2005.
- Smith, M. V. 1960. Beekeeping in the tropics. London, Longmans.

- Spivak, M. 1996. Honey bee hygienic behavior and defense against *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 27(4): 245-260.
- Spivak, M., Downey, D.L. 1998. Field assays for hygienic behaviour in honey bees (*Hymenoptera: Apidae*). *Journal of Economic Entomology* 91: 64-70.
- Spivak, M., Gilliam, M. 1993. Facultative expression of hygienic behaviour of honey bees in relation to disease resistance. *Journal of Apicultural Research* 32(3/4): 147-157.
- Spivak, M., Reuter, G.S. 1998. Performance of hygienic honey bee colonies in a commercial apiary in Wisconsin. *Apidologie* 29: 291-302.
- Spreafico, M., Eordegh, F.R., Bernardinelli, I., Colombo, M. 2001. First detection of strains of *Varroa destructor* resistant to coumaphos. Results of laboratory tests and field trials. *Apidologie* 32(1): 49-55.
- Statistique Canada. 1999. Annuaire du Canada 1999, 11-402-XCB
- Statistique Canada. 2002. Production et valeur du miel et des produits de l'érable. Catalogue No 23-221-XIB.
- Statistique Canada. 2003. Production et valeur du miel et des produits de l'érable. Catalogue No 23-221-XIB.
- Statistique Canada. 2004. Production et valeur du miel et des produits de l'érable. Catalogue No 23-221-XIB.
- Szabo, T.I. 1989. The capping scratcher: a tool for detection and control of *Varroa jacobsoni*. *American Bee Journal* 129(6):402-403.
- Szabo, T.I., Walker, C.R.T. 1995. Damages to dead *Varroa jacobsoni* caused by the larvae of *Galleria mellonella*. *American Bee Journal* 135(6): 421-422.
- Tewarson, N.C., Singh, A., Engels, W. 1992. Reproduction of *Varroa jacobsoni* in colonies of *Apis cerana indica* under natural and experimental conditions. *Apidologie*. 23(2): 161-171.
- Thompson, H. M., Brown, M.A., Ball, R.F., Bew, M.H. 2002. First report of *Varroa destructor* resistance to pyrethroids in the UK. *Apidologie* 33(4): 357-366.
- Trouiller, J., Arnold, G., Chappe, B., Le Conte, Y., Billion, A., Masson, C. 1994. The kairomonal esters attractive to the *Varroa jacobsoni* mite in the queen brood. *Apidologie* 25(3): 314-321.
- Underwood, R.M., Currie, R.W. 2003. The effects of temperature and dose of formic acid on treatment efficacy against *Varroa destructor* (*Acari: Varroidae*), a parasite of *Apis*



*mellifera* (Hymenoptera: Apidae). Experimental and Applied Acarology 29(3/4): 303-313.

Wallner, K. 1999. Varroacides and their residues in bee products. Apidologie 30: 235-248.

Watkins, M. 1996. Resistance and its relevance to beekeeping. Bee World 78(1): 15-22.

Westcott, L.C., Winston, M.L. 1999. Chemical acaricides in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies; do they cause nonlethal effects. Canadian Entomologist 131(3): 363-371.

Winston, M.L. 1987. The biology of the honey bee. Cambridge, Massachusset Harvard University Press.

Winston, M.L., Fergusson, L.A. 1985. The effect of worker loss on temporal caste structure in colonies of the honeybee (*Apis mellifera* L.). Canadian Journal of Zoology 63(4): 777-780.

Winston, M.L., Katz, S.J. 1982. Foraging differences between cross-fostered honeybee workers (*Apis mellifera*) of European and Africanized races. Behavioral Ecology and Sociobiology 10: 125-129.

Witherell, P.C., Bruce, W.A. 1990. *Varroa* mite detection in beehives: evaluation of sampling methods using tobacco smoke, fluvalinate smoke, amitraz smoke and ether-roll. American Bee Journal 130(2): 127-129.

## ANNEXE

### Les pathologies de l'abeille

Cette section résume les principales pathologies retrouvées chez l'abeille. Elle concerne les virus, les bactéries, les protozoaires, les champignons, les insectes, les acariens, ainsi que d'autres anomalies et maladies non infectieuses.

#### **1 Virus**

Il y a plus d'une centaine de virus qui ont été répertoriés chez l'abeille domestique, mais la grande majorité des infections qu'ils causent sont asymptomatiques. Cette section s'attarde à ceux qui causent des dommages à l'apiculture et ceux qui sont possiblement associés aux infestations par *V. destructor*. La plupart des virus affectant les abeilles sont des virus à ARN avec une forme isométrique (Bailey, 1982), ont une taille d'environ 30 nm et ne sont pas discernables par leur morphologie au microscope électronique (Allen et Ball, 1996). Les rapports concernant les associations de virus avec *V. destructor* sont parfois contradictoires car les maladies associées aux virus sont souvent difficiles à diagnostiquer et à identifier. Les méthodes récentes d'analyses moléculaire et sérologique devraient permettre de mettre les choses au clair dans les années à venir (Sammataro, 1997). Au Québec, une seule étude a été faite pour détecter la présence de virus dans les colonies. Au printemps 2004, huit échantillons d'abeilles, provenant de ruchers malades chez différents apiculteurs de la province, ont été analysés dans un laboratoire américain pour la présence de six virus (virus de la paralysie aiguë, virus de la paralysie chronique, virus des cellules noires de reines, virus des ailes difformes, virus de l'abeille du Cachemire, et virus du couvain sacciforme). Sept des huit échantillons réagissent positivement pour la présence du virus des ailes difformes, cinq ont testé positif pour la présence du virus des cellules noires de reines et les quatre autres virus n'ont pu être détectés dans aucun échantillon (Boucher, 2004, communication personnelle). Il est toutefois important de mentionner que les charges virales détectées peuvent être très élevées sans que l'apiculteur ne perçoive de symptômes. Les maladies

associées aux virus semblent être souvent déclenchées par un facteur tel qu'une mauvaise qualité de nourriture ou la présence d'un parasite.

### **1.1 Le couvain sacciforme (*Sacbrood disease virus*)**

Cette maladie tire son nom de l'aspect particulier pris par les larves mortes de cette infection. En effet, les larves facilement retirées des cellules avec une pince ont l'apparence d'un petit sac gonflé de liquide. Quoique ce virus soit très répandu et contagieux, il n'égale pas la gravité d'autres maladies de l'abeille et disparaît souvent sans intervention durant la miellée. Les opercules, souvent affaissés, ont la même apparence que lors d'infections avec la loque américaine (Brizard et Albisetti, 1982). La maladie a été rapportée dans toutes les régions du monde où il y a des abeilles (Allen et Ball, 1996). Il n'y a pas de traitement chimique connu contre ce virus. On retrouve habituellement des larves affectées lorsque la population d'adultes n'est pas assez grande pour la quantité de couvain à entretenir. Le renforcement de la colonie par l'ajout d'abeilles, un changement de reine ou l'amélioration des conditions environnementales sont les seules recommandations qui peuvent être faites pour contrôler l'infection. Le couvain sacciforme ne cause normalement pas la mort de la colonie. Le virus peut être retrouvé dans des larves en apparence saine (Dall, 1985) et il est parfois observé en présence de la loque américaine et la loque européenne (Morse et Nowogrodzki, 1990).

Jedruszuk (2000) rapporte une incidence plus grande de la maladie dans les ruches n'ayant pas été traitées contre *V. destructor*, suggérant une relation entre les deux pathologies. Par contre Pohl et Ritter (1997) n'ont pas pu établir de corrélation entre l'incidence des deux pathologies. Il n'est donc pas encore clair s'il existe ou non une relation entre la présence de ce virus et celle de *V. destructor*.

### **1.2 Virus de la paralysie chronique ou maladie noire (*Chronic paralysis virus*)**

Ce virus a été répertorié sur tous les continents sauf l'Amérique du sud (Allen et Ball, 1996). Les adultes affectés par le virus de la paralysie chronique sont habituellement retrouvés sur le dessus des cadres, tremblant de façon incontrôlée et incapables de voler. Les individus malades sont souvent noirs, sans poil et luisants (Shimanuki et Knox, 2000). Il est reconnu que la susceptibilité à cette maladie a une

origine génétique et qu'il est possible de faire de la sélection pour avoir des colonies plus ou moins susceptibles (Kulinčević et Rothenbuhler, 1975, 1989; Rinderer et coll., 1975). Le virus est couramment présent dans des colonies acceptées comme étant en santé par les apiculteurs et il a été montré que des abeilles en apparence normale peuvent être porteuses (Bailey et Ball, 1991). La présence du virus de la paralysie chronique a été rapportée en même temps que celle de *V. destructor* (Ruzicka, 1991), mais il ne semble pas y avoir de relation directe entre leur incidence. Ball et Allen (1988) suggèrent que ce virus pourrait être transmis par *V. destructor*, comme le virus de la paralysie aiguë, mais sa réplication serait limitée par la réplication plus rapide du deuxième, comme cela s'observe en laboratoire lorsque les deux virus sont présents.

### **1.3 Virus de la paralysie aiguë (*Acute paralysis virus*)**

Une infection par ce virus présente de symptômes semblables à celle causée par le virus de la paralysie chronique. Sa présence semble être fortement associée avec celle de *V. destructor* et il semblerait qu'en plus d'être un vecteur de la maladie, l'acarien activerait le virus en le rendant pathogène (Ball et Allen, 1988; Sammataro, 1997). La présence du virus a été rapportée en Angleterre, en France, en Italie, au Canada, en Nouvelle-Zélande et probablement en Australie sans symptômes, maladies ou décès associés. Par contre, de grandes quantités de virus ont été retrouvées dans des adultes morts et du couvain malade provenant de colonies des États-Unis et d'Europe infestées par *V. destructor*. Le virus de la paralysie aiguë serait une cause de mortalité importante dans les colonies infestées par cet acarien (Allen et Ball, 1996).

### **1.4 Virus de la paralysie lente (*Slow paralysis virus*)**

Ce virus a été rapporté en Angleterre (Bailey, 1975) et en Allemagne (Ball, 1997) et cause la paralysie des deux paires de pattes avant chez les adultes (Bailey, 1975) et la mort rapide de l'individu (Carreck et coll., 2001). Il a été détecté en grande quantité dans des abeilles, des nymphes et des larves mortes de la varroase en Allemagne (Ball, 1997). Comme le virus de la paralysie aiguë, il serait présent de façon commune dans les ruches et *V. destructor* pourrait le transmettre et le rendre pathogène (Allen et Ball, 1996; Ball, 1997; Carreck et coll., 2001).

### 1.5 Virus de l'abeille du Cachemire (*Kashmir bee virus*)

Les larves mortes de cette infection ont une apparence aqueuse et glacée un peu comme les larves tuées par le couvain sacciforme, sauf que le virus de l'abeille du Cachemire tue les larves à leur stade recourbé, avant l'operculation (Morse et Nowogrodzki, 1990). Le virus peut être trouvé sous forme latente dans des larves en apparence saine (Dall, 1985). Ce virus est relié sérologiquement au virus de la paralysie aiguë et il a été suggéré qu'il s'agirait de différentes variétés du même virus et que l'utilisation de différents noms pour ces deux virus serait inappropriée (Allen et Ball, 1995). On a longtemps pensé que sa présence était limitée à l'Asie mais par la suite, la présence du virus a été rapportée au Canada, aux États-Unis et en Espagne (Allen et Ball, 1996). Plus récemment, il a été rapporté au Costa-Rica dans des colonies d'abeilles africanisées infestées par *V. destructor* (Calderon et coll., 2003). Une étude de Bruce et coll. (1995) a montré que le virus était grandement répandu aux États-Unis, sans signe d'infection. Le virus est probablement très répandu mais ne se manifeste qu'en présence de la varroase (Sammataro, 1997).

### 1.6 Virus des ailes difformes (*Deformed wing virus*)

L'infection par ce virus est caractérisée par la présence de jeunes abeilles aux ailes malformées. Les abeilles incapables de voler ont une durée de vie réduite et sont inaptes à participer aux activités de la colonie. Ces symptômes étaient autrefois attribués directement aux effets du parasitisme par *V. destructor* mais il est aujourd'hui clair que c'est un virus qui est en cause (Bowen-Walker et coll., 1999). Plusieurs études ont montré qu'il existe une relation intime entre la présence de *V. destructor* et l'infection par ce virus (Bailey et Ball, 1991; Ball, 1989; Ball, 1993; Calderon et coll., 2003; Norström, 2003). Ce virus est grandement répandu et a été rapporté dans plusieurs pays du monde (Allen et Ball, 1996; Calderon et coll., 2003; Martin et coll., 1998; Nordström et coll., 1999). La présence du virus a aussi été détectée dans les individus de *V. destructor* (Bowen-Walker et coll., 1999; Norström, 2003). Il a été montré que le virus peut être transmis par *V. destructor* (Ball, 1989) et même que l'acarien est un vecteur efficace de la maladie (Bowen-Walker et coll., 1999). Pour sa part, Norström (2003) a établi que même

si la femelle de *V. destructor* est souvent un vecteur du virus, elle ne l'acquiert ni le transmet à chaque occasion. L'étude suggère aussi que les acariens femelles ne transmettent pas le virus à leur progéniture.

Chen et coll. (2004) ont identifié le virus pour la première fois aux États-Unis. Ils ont découvert la présence du virus dans des individus de *V. destructor* mais aussi dans des oeufs d'abeilles ce qui laisse croire que l'acarien n'est pas le seul véhicule pour la propagation de la maladie. La présence du virus dans des adultes, en apparence sains, laisse croire qu'il faudrait que le virus ait atteint une certaine concentration avant de causer la déformation des ailes. La relation qui unit le virus, l'acarien et l'abeille n'est pas encore parfaitement élucidée, mais il est clair que la présence d'ailes déformées sur des abeilles émergentes est fortement corrélée à une haute concentration de virus dans les acariens présents dans l'alvéole (Bowen-Walker et coll., 1999; Norström, 2003)

### **1.7 Virus filamenteux de l'abeille (*Filamentous virus*)**

Ce virus a été rapporté sur tous les continents sauf l'Amérique du Sud (Allen et Ball, 1996). Il est aussi connu sous le nom de F-virus ou rickettsiose de l'abeille. Cette maladie qu'on croyait autrefois causée par une bactérie de la famille des rickettsies peut être diagnostiquée en examinant au microscope l'hémolymphe des adultes infectés (Shimanuki et Knox, 2000) qui a une apparence blanche et laiteuse (Clark, 1977). Dans les colonies affectées, la population décline et les ouvrières qui ne sont apparemment pas capables de voler, rampent à l'entrée de la ruche. Les larves meurent et deviennent brunes ou noires dans leurs cellules operculées (Clark, 1977, 1978). La présence de ce virus est associée avec celle du parasite *Nosema apis* décrit plus loin (Allen et Ball, 1996; Bailey et coll., 1983). Ce virus est très répandu mais il est rarement dommageable (Allen et Ball, 1996). On ne connaît pas de relation entre la présence de ce virus et celle de *V. destructor*.

### **1.8 Virus des ailes opaques ou nuageuses (*Cloudy wings virus*)**

Ce virus commun de l'abeille cause parfois une perte de transparence des ailes chez les individus sévèrement affectés. Selon les observations de Bailey et coll. (1980), l'infestation se propagerait par voie aérienne entre les abeilles, sur de courtes distances.

Les individus affectés meurent rapidement. Le virus a été rapporté en Angleterre (Bailey et coll., 1981), dans les terres d'Europe (Ball et Allen, 1988), et dans des échantillons provenant d'Égypte et d'Australie (Bailey et Ball, 1991).

Dans une étude par Norström et coll. (1999) dans le nord de l'Europe, la présence très répandue du virus dans les ruchers n'a pas pu être associée avec le taux d'infestation par *V. destructor*. En Angleterre, on a noté une augmentation de la présence de ce virus depuis l'arrivée de *V. destructor*, mais on n'a pas pu démontrer, en laboratoire ou en condition de champ, que *V. destructor* pouvait transmettre le virus (Carreck et coll., 2001) et la relation entre les deux demeure nébuleuse (Carreck et coll., 2001; Sammataro, 1997)

## 1.9 Autres Virus

Une multitude d'autres virus peuvent être présents chez l'abeille domestique mais la plupart sont asymptomatiques. Parmi ceux qui causent des symptômes, on trouve le virus Y de l'abeille, le virus X de l'abeille et le virus des cellules noires de la reine. Aucun de ces virus n'est relié directement à la présence de *V. destructor* (Allen et Ball, 1996)

## 2 Bactéries

Les deux maladies les plus importantes de l'abeille domestique sont causées par des bactéries. Il s'agit de la loque américaine et la loque européenne, qui ont été grandement étudiées à travers le monde. Jusqu'en 1906, les deux maladies portaient le même nom de loque. La première distinction entre les deux maladies a été faite dans une publication de White (1906).

### **2.1 *Paenibacillus larvae*, agent de la loque américaine (*American foulbrood*)**

Cette bactérie est la cause de l'une des plus redoutables maladies de l'abeille et elle est hautement contagieuse. Elle est Gram positive, elle a une forme de bâtonnet et mesure entre 2,5 µm et 5 µm. Elle produit des spores de forme ovale d'environ 1,3 µm (Bailey et Ball, 1991). Comme ces spores peuvent demeurer viables pendant plus de 70 ans (Shimanuki et Knox, 1994), la maladie peut se répandre facilement par l'équipement d'apiculture et sa distribution est facilitée par l'échange de cadres entre les ruches. Les

dommages économiques causés par cette maladie sont importants et sa distribution est mondiale (Morse et Nowogrodzki, 1990).

On peut reconnaître la maladie par l'apparence du couvain qui devient disséminé, l'odeur caractéristique et l'aspect anormal des opercules qui deviennent plus sombres, s'affaissent et sont parfois troués. Le signe le plus caractéristique est peut-être la texture visqueuse que prennent les larves mortes et leur adhérence à la paroi de la cellule (Brizard et Albisetti, 1982).

Pendant longtemps, le seul moyen de contrôler cette maladie a été de brûler tout le matériel et les abeilles contaminés par la bactérie. Park (1936) a établi qu'il existait des souches d'abeilles plus résistantes à la maladie et qu'il était donc possible de faire de la sélection afin de contrôler cette maladie. Plus tard, Spivak et Reuter (2001) ont avancé qu'il était possible de réduire l'incidence de la maladie en sélectionnant pour des abeilles avec un comportement hygiénique plus prononcé et que cette voie semblait prometteuse.

Le premier traitement chimique efficace a été découvert par Haseman et Childers (1994) qui ont réussi à guérir et à protéger des colonies de la réinfestation en nourrissant les abeilles avec du sulfathiazole. Plus tard, Gochnauer (1951) a rapporté que l'oxytétracycline pouvait aussi être un traitement efficace contre la maladie. Aujourd'hui, l'oxytétracycline est encore utilisée au Canada et c'est le seul produit homologué pour cette infection. Michael (1964) a mis en évidence que l'oxyde d'éthylène pouvait être efficace lorsque fumigé pour détruire les spores dans le matériel. Les premiers travaux en condition de champs avec l'équipement fumigé à l'oxyde d'éthylène ont été réalisés par Shimanuki (1967); plus tard, Knox et coll. (1976) ont montré que ce traitement pouvait être combiné avec l'utilisation de l'oxytétracycline. Des cas de résistance de la bactérie à l'oxytétracycline ont récemment été rapportés et des solutions alternatives de contrôle sont à l'étude (Elzen et coll., 2002).

Il a été montré à plusieurs reprises que *V. destructor* pouvait transporter des spores de *Paenibacillus larvae* sur son corps (Alippi, 1992; Alippi et coll., 1995; Rycke et coll., 2002). Rycke et coll. (2002) prétendent que la quantité de spores transportées par *V. destructor* serait suffisante pour transmettre la maladie. Toutefois, leur étude a été faite en laboratoire. Lors d'une étude *in vivo* de Alippi et coll. (1995), *V. destructor* n'a pas pu transmettre la maladie d'une ruche infectée à une ruche saine, malgré l'établissement



d'une infestation de *V. destructor*, marquée par la présence de spores sur le corps des individus. De plus Otten (1994) n'a pas pu établir de corrélation entre l'incidence de la loque américaine et de celle de la varroase en Allemagne.

## **2.2 *Melissococcus pluton* (autrefois *Streptococcus pluton*), agent de la loque européenne (*European foulbrood*)**

La bactérie *Melissococcus pluton* est responsable d'une infection nommée loque européenne, qui affecte les larves. Elle est répandue à peu près partout où il y a de l'apiculture (Bradbear, 1988). Cette maladie tue habituellement les larves lorsqu'elles ont 4 ou 5 jours. Les larves mortes deviennent flasques, tournent au brun puis se décomposent en dégageant le plus souvent une odeur fétide ou amère (Bailey et Ball, 1991).

Les bactéries sont ingérées avec de la nourriture contaminée et se retrouvent dans le système digestif de la larve (Bailey et Ball, 1991). Celles qui survivent à l'affectation produisent des adultes de poids réduit puisque les bactéries ont consommé une bonne partie de leur nourriture (Bailey, 1960). Dans une colonie vigoureuse, les ouvrières retirent et rejettent régulièrement les larves infectées avant même que des signes visibles apparaissent. Les signes de maladie apparaissent quand le nombre d'ouvrières nourrices est insuffisant pour nourrir les larves (Bailey et Ball, 1991).

Autrefois, on recommandait de traiter en faisant un changement de reine. Le succès de cette méthode repose en partie sur le fait qu'une nouvelle reine devrait pondre de façon plus prolifique. Néanmoins, l'effet le plus important est dû au fait que l'arrêt de ponte momentanée dans le cycle de couvain donne aux ouvrières le temps de retirer les larves infectées et de nettoyer les cellules (Morse et Nowogrodzki, 1990). Le traitement chimique le plus utilisé est l'oxytétracycline, comme pour la loque américaine (Morse et Nowogrodzki, 1990). La bactérie ne semble pas avoir développé de résistance à ce produit jusqu'à maintenant (Waite et coll., 2003). La fumigation du matériel à l'oxyde d'éthylène est une méthode qui s'est également avérée efficace (Shimanuki et coll., 1969).

Dans une étude récente (Kanbar et coll., 2004), *Melissococcus pluton* a pu être isolée sur des plaies causées par *V. destructor*, laissant croire que le parasite pourrait agir comme agent de propagation de cette infection bactérienne.

## 2.3 Autres bactéries

Il existe d'autres bactéries qui peuvent causer des pathologies chez les abeilles, mais leur incidence est très faible et parfois leur identification n'est pas définitive. La présence de ces bactéries lors d'épisodes pathologiques pourrait aussi être une conséquence d'une autre maladie plutôt que la cause. Parmi les familles de bactéries suspectées, on retrouve des rickettsies, des siroplasmes et des mycoplasmes (Bailey et Ball, 1991; Morse et Nowogrodzki, 1990)

## 3. Protozoaires

### 3.1 *Nosema apis*

Aujourd'hui répandue partout à travers le monde (Nixon, 1982), la nosémosse est une maladie qui dérègle le système digestif des abeilles adultes. Elle est causée par *Nosema apis*, un protozoaire. Il n'y a pas de symptôme typique qui permette d'identifier un individu atteint de nosémosse et il faut retirer le tractus digestif d'une abeille et examiner le ventriculus pour voir l'infestation (White, 1918). Les travaux réalisés depuis 1960 ont montré que *N. apis* est un organisme qui cause de sérieux dommages chez *A. mellifera* (Morse et Nowogrodzki, 1990). Même si les travaux de White (1918) mentionnent des changements physiologiques causés par la maladie, il a fallu attendre les travaux de Wang et Moeller (1970) pour comprendre que les glandes hypopharyngiennes des individus touchés par la maladie devenaient atrophiées. Ces changements physiologiques réduisent la production de gelée royale et sont responsables de la réduction rapide des populations d'abeilles en hivernage, lorsqu'ils étaient observés en période de stress (Wang et Moeller, 1970). Effectivement, comme la maladie se manifeste habituellement chez les abeilles confinées, les infections les plus sévères se retrouvent chez les abeilles en hivernage, les abeilles empaquetées et celles utilisées pour la pollinisation en serre (Shimanuki et Knox, 2000).

En 1952, Katznelson et coll. ont découvert que l'antibiotique fumagiline était efficace pour réprimer *N. apis*. Plus tard d'autres travaux ont montré l'efficacité de la fumagiline pour contrôler la maladie dans les ruches en hivernage dans les régions

nordiques (Furgala et Boch, 1970; Kulikov, 1961; Moeller, 1967). La fumigation du matériel apicole à l'oxyde d'éthylène est aussi létale pour *N. apis* (Michael, 1964).

La présence de *V. destructor* dans des ruchers infectés par *N. apis* a été rapportée (Orantes Bermejo et Garcia Fernandez, 1997; Romaniuk et Wawrzyniak, 1991) mais aucune relation claire entre les deux affectations n'a été établie. On peut cependant imaginer qu'une colonie affaiblie par une forte infestation de *V. destructor* à l'automne serait plus susceptible d'éprouver des problèmes avec la nosérose durant l'hivernage des colonies.

### 3.2 Autres protozoaires

Il existe aussi d'autres organismes de ce groupe qui s'attaquent aux abeilles, mais leur importance est moindre pour les apiculteurs puisque ces parasites ne causent pas de torts sérieux. Parmi ceux-ci, on trouve *Malpighamoeba mellificae* ainsi que des grégarines et des flagellés (Bailey et Ball, 1991; Shimanuki et Knox, 2000).

## 4 Champignons

La plupart des champignons associés aux colonies d'*A. mellifera* ne causent pas de problème pour les apiculteurs. Il existe toutefois quelques champignons causant des pathologies assez sérieuses.

### 4.1 *Ascophaera apis*, agent de l'ascosphérose ou du couvain plâtré (*Chalkbrood*)

L'ascosphérose, aussi appelée maladie du couvain plâtré, est facilement identifiable par ses symptômes. Les larves affectées augmentent de volume pour occuper tout l'espace de la cellule et prennent une apparence cotonnée à cause des mycelles se développant à leur surface (Shimanuki et Knox, 2000). La maladie est habituellement passagère mais il peut quand même y avoir des cas où l'infection devient endémique et persistante, et elle peut alors causer des dommages (Bailey et Ball, 1991).

Plusieurs chercheurs ont rapporté une relation positive entre le taux d'infestation par *V. destructor* et l'incidence d'*A. apis* (Glinski, 1988; Liu, 1995; Medina et Mejia, 1999). D'autre part, Bienkowska et coll. (1996) ont observé une relation inverse entre le

nombre d'acariens et le nombre de larves momifiées par *A. apis* sur une période de deux ans.

#### 4.2 Aspergillose ou « couvain pétrifié » (*Stonebrood*)

L'aspergillose est rare chez les abeilles et est considérée comme une nuisance mineure par les apiculteurs. Les adultes et les larves sont susceptibles d'être victimes d'infections par plusieurs espèces du genre *Aspergillus*. C'est le plus souvent *A. flavus* qui cause l'aspergillose chez l'abeille mais *A. fumigatus* et *A. niger* sont aussi rencontrées à l'occasion. Les larves et les pupes infectées durcissent et se transforment en espèces de momies rigides après leur mort. L'abdomen des adultes infectés devient aussi momifié (Morse et Nowogrodzki, 1990). L'individu s'infecte par ingestion des spores (Burnside, 1930). Après la germination des spores dans le tractus alimentaire, les mycelles peuvent s'attaquer aux tissus mous. Les spores peuvent aussi germer sur la cuticule et les mycelles pénètrent alors les tissus (Morse et Nowogrodzki, 1990). Habituellement la colonie n'est pas affectée puisque seulement une faible proportion des individus est infectée. Toutefois la mort d'une colonie suite à une infestation naturelle a déjà été rapportée (Dreher, 1953).

La présence de spores *A. flavus* (Benoit et coll., 2004) et d'*Aspergillus sp.* (Liu et Ritter, 1988) sur le corps de *V. destructor* a été rapportée, et on suspecte l'acarien de pouvoir participer à la propagation des spores. La présence d' *A. flavus* dans le tractus intestinal d'une faible proportion (5%) de *V. destructor* a aussi été mentionnée (Glinski et Jarosz, 1990).

#### 4.3 Autres champignons

D'autres champignons peuvent causer des dommages à la ruche mais on ne les rencontre pas assez souvent pour qu'ils soient inclus dans la liste des agents pathogènes de l'abeille (Morse et Nowogrodzki, 1990). Il existe aussi plusieurs champignons qui se retrouvent de façon naturelle dans les intestins de l'abeille mais aucun ne semble être pathogène (Skou et Holm, 1980; Vecchi, 1959).

## **5. Insectes**

### **5.1 Lépidoptères**

Il existe plusieurs espèces de papillons qui sont des nuisances pour l'abeille domestique. Parmi les plus communes on trouve *Aphomia sociella*, *Plodia interpunctella*, *Anagasta kuehniella* et *Acherontia atropos* (Morse et Nowogrodzki, 1990). Par contre, les plus connues et les plus redoutables sont les fausses-teignes, qui causent des dégâts importants dans les colonies incapables de les repousser. Il en existe deux espèces qui, le plus souvent, se rencontrent séparément, la grande fausse-teigne (*Galleria mellonella*) et la petite fausse-teigne (*Achroia grisella*).

#### **5.1.1 *Galleria mellonella* ou grande fausse-teigne (*Greater wax moth*)**

Ce papillon petit assez trapu et d'une teinte grise a une apparence plutôt banale. Ce sont les larves du papillon qui causent les dommages en se nourrissant de miel et de pollen et en creusant des tunnels dans la cire (Nielsen et Brister, 1979). Elles s'attaquent aux colonies d'*A. cerana*, *A. dorsata* et *A. mellifera* (Morse et Laigo, 1968; Shimanuki, 1981; Sihag, 1982). Parmi les conditions favorisant l'infestation, il y a le manque de nourriture, la maladie (en particulier la loque américaine), des problèmes de reines et une grande perte d'ouvrières, tel que retrouvé lors d'un empoisonnement par les pesticides (Morse et Nowogrodzki, 1990).

Le papillon est répandu à travers le monde et sa distribution est surtout limitée par le climat, l'espèce ne tolérant pas bien les longues périodes de gel (Morse et Nowogrodzki, 1990). Au Québec, il est présent mais ne cause pas de tort sérieux aux apiculteurs qui appliquent une prophylaxie adéquate. Nos hivers sont suffisamment rigoureux pour empêcher une propagation incontrôlée.

Le moyen le plus simple de lutter contre *G. mellonella* est de garder les colonies fortes en population et d'avoir une bonne hygiène de travail. Il existe aussi plusieurs méthodes de contrôle naturelles et chimiques qui sont décrites dans Morse et Nowogrodzki (1990).

Il a été montré en laboratoire que les larves de *G. mellonella* pouvaient causer des dommages sur des femelles *V. destructor* mortes (Szabo et Walker, 1995). Ce fait est surtout d'intérêt dans l'évaluation du comportement d'épouillage des abeilles, puisque les

dommages causés aux acariens morts, habituellement attribués au comportement d'épouillage des abeilles, pourraient parfois être confondus avec des dommages causés par *G. mellonella*. De plus, il a été établi que *V. destructor* ne pouvait pas survivre en se nourrissant sur *G. mellonella*, ce qui suggère que la grande fausse-teigne ne participerait pas à la propagation de *V. destructor* (Jedruszuk et coll., 1994).

### 5.1.2 *Achroia grisella* ou la petite fausse-teigne

Le papillon *Achroia grisella*, d'une taille légèrement plus petite que *G. mellonella*, a une distribution qui s'étend au travers des régions tempérées et tropicales du monde (Hassanein et coll., 1969; Singh, 1962). Cependant, elle n'est généralement qu'une nuisance mineure pour les apiculteurs (Morse et Nowogrodzki, 1990).

Contrairement aux larves de *G. mellonella* qui ont un comportement grégaire, les larves de *A. grisella* grandissent isolées dans leur tunnel soyeux (Singh, 1962). La diète idéale pour la larve est composée de rayons foncés contenant du pollen ou du couvain (Hassanein et coll., 1969). Par contre, on la retrouve le plus souvent sur le plancher de la ruche, dans les débris (Morse et Nowogrodzki, 1990).

Il a été prouvé que *V. destructor* ne peut survivre en se nourrissant sur *A. grisella*, ce qui suggère que la petite fausse-teigne ne participerait pas à la propagation de ce parasite (Jedruszuk et coll., 1994).

## 5.2 Hyménoptères

Cet ordre comprend entre autres toutes les espèces d'abeilles, bourdons, guêpes et fourmis. Plusieurs membres de cet ordre sont des prédateurs de l'abeille domestique. Parmi les plus redoutables se trouvent ceux qui sont sociaux. Leur capacité de faire des attaques coordonnées les rend très efficaces. Les plus dommageables appartiennent à la famille des Formicidae (fourmis), qui s'intéressent plutôt au miel, et certaines espèces de Vespidae (guêpes) qui utilisent les larves des abeilles comme nourriture pour leur propres larves et qui peuvent décimer des colonies entières en Asie (Morse et Nowogrodzki, 1990).

### 5.3 Coléoptères

Le coléoptère le plus nuisible pour *A. mellifera* est *Aethina tumida* qui appartient à la famille des Nitidulidae. Cet insecte est un parasite des ruches (miel, pollen, cire) et du matériel apicole en entrepôt. Les larves sont attirées par les protéines, le pollen, la cire et les nymphes (Suazo et coll., 2003). Elles souillent le miel qui fermente et devient inutilisable pour l'homme et l'abeille. Les adultes du parasite peuvent aussi causer des dommages. Si la colonie est faible il y a aussi contamination du couvain et de la colonie. Il est donc particulièrement menaçant pour les éleveurs de reines et les producteurs de nucléi (petites ruches). On ne croit pas qu'il puisse hiverner dans le sol sous nos climats canadiens mais il peut hiverner dans des grappes d'abeilles en hibernation (Neumann et Elzen, 2004). *Aethina tumida* peut se propager dans les entrepôts chauffés où sont stockées les hausses de miel avant l'extraction et y causer des pertes considérables. Sa menace demeure toujours présente car ce coléoptère est annuellement transporté jusqu'aux lignes américaines par la transhumance des ruches venant du Sud américain

### 5.4 Autres insectes

Selon Morse et Nowogrodzki (1990), 13 des 27 ordres d'insectes incluent des espèces qui sont connues pour être des nuisances aux abeilles, à leurs rayons, aux ruches, aux larves ou aux réserves de pollen. Les ordres des lépidoptères, des coléoptères et des hyménoptères ont été mentionnés plus haut. Dans les 10 ordres restants, seulement quelques espèces représentent plus que des nuisances mineures et la plupart des problèmes qu'elles causent sont limités géographiquement ou surviennent sur de courtes périodes. Quelques mesures simples peuvent limiter les problèmes reliés aux insectes. Les colonies doivent être populeuses, les abeilles doivent avoir accès à tous les recoins de la ruche, le plateau du fond de la ruche doit être gardé propre et l'entrée de la ruche doit être réduite à une mince ouverture, juste assez pour accommoder les abeilles.

## **6. Anomalies et maladies non-infectieuses**

### **Dysenterie et sucres poisons**

La dysenterie a été rapportée partout, mais elle affecte surtout les colonies dans les régions où l'hiver est long et rigoureux. Il ne s'agit pas d'une maladie d'origine virale ou bactérienne mais plutôt d'un trouble fonctionnel du système digestif, le plus souvent causé par des perturbations répétées de la grappe hivernale (Albisetti et Brizard, 1982). Lors de perturbations, la grappe d'hiver se dissocie. Les abeilles se mettent alors à consommer du sirop et du pollen. Si les perturbations sont trop fréquentes, l'ampoule rectale ne peut plus conserver les déchets alimentaires jusqu'au jour propice à leur rejet. Un déséquilibre est alors créé qui se traduit par la défécation des abeilles dans la ruche, sur les parois extérieures et à l'entrée (Albisetti et Brizard, 1982). D'autres conditions peuvent aussi mener à la dysenterie. Le nourrissage d'automne avec un sirop inadéquat, un miel trop aqueux, une insuffisance de réserves forçant l'apiculteur à nourrir trop tôt au printemps et une mauvaise hygiène (manque d'aération, humidité...). La cristallisation du sirop est aussi une cause de dysenterie (Morse et Nowogrodzki, 1990). Il est permis de penser qu'une infestation par *V. destructor* pourrait aggraver la situation lors d'un problème de dysenterie (ou vice-versa) puisque les deux affectent les abeilles surtout en hiver.

L'utilisation d'un sucre de mauvaise qualité pour le nourrissage d'automne peut aussi causer des empoisonnements. En effet, lors de l'utilisation d'un sirop contenant une grande concentration de sucrose, on peut voir apparaître une substance toxique pour les abeilles, l'hydroxyméthylfurfural (HMF). Ce produit est le résultat de l'hydrolyse en milieu acide du sucrose en sucres simples, soit le fructose et le dextrose. Une concentration trop élevée de HMF peut entraîner des mortalités hivernales importantes (Jachimowicz et Sherbiny, 1975). On peut aussi rencontrer des problèmes avec le HMF lors de l'entreposage de solutions sucrées contenant de l'acide oxalique utilisées pour lutter contre *V. destructor* (Prandin et coll., 2001).



## **7. Acariens (autres que *V. destructor*)**

Il existe un grand nombre d'acariens qui sont parasites des insectes et des autres animaux. Ils vivent et se multiplient sur presque toutes les surfaces et sont souvent spécialisés pour se loger à un endroit précis, sur un hôte spécifique. Il existe une grande variété d'espèces qui parasitent les abeilles mais seulement quelques-unes s'attaquent à *Apis mellifera*. Présentement, l'acarien qui cause le plus de dommage aux abeilles est *V. destructor* et il a déjà été décrit. Les autres seront décrits ici.

### **7.1 *Acarapis woodi***

Cet acarien d'une longueur d'environ 150 µm, infecte principalement la trachée de l'abeille, mais il a aussi été trouvé dans les sacs trachéaux, la tête et l'abdomen (Prell, 1927). L'acarien perce la paroi de la trachée avec ses pièces buccales pour se nourrir de l'hémolymphe de son hôte (Örösi-Pál, 1934).

Il n'y a pas de signe extérieur d'une infestation par *A. woodi*. La seule façon de vérifier sa présence est de faire une dissection de la trachée sous microscope. Les abeilles, même fortement infestées, sont en mesure de voler normalement (Gary et Page, 1989; Rennie et coll., 1921), mais elles ont une durée de vie réduite (Bailey, 1958; Bailey et Lee, 1959). Fyg (1964) a montré qu'une reine infestée pouvait quand même vivre plusieurs années. Dans une région avec un long hiver comme le Québec, cette donnée peut prendre plus d'importance que dans les régions plus chaudes. Si les abeilles sont en plus infestées par *V. destructor* ou *N. apis*, cela s'ajoute à leur fardeau et on peut imaginer que cela réduit encore d'avantage leurs chances de survie à l'hiver. L'infestation par *A. woodi* à elle seule ne serait pas en mesure de causer des torts important à une colonie (Gary et Page, 1989).

Comme pour d'autres maladies de l'abeille, les effets néfastes attribués aux infestations par *A. woodi*, comme des abeilles rampantes et la réduction rapide de la population, sont souvent confondus avec l'effet de maladies plus difficiles à repérer comme celles causées par les virus (Bailey et Ball, 1991).

Les jeunes abeilles sont les plus vulnérables à l'infestation dans les premières heures après leur émergence et sont de moins en moins susceptibles pendant les jours qui suivent. Les abeilles de plus de quatre jours sont très rarement susceptibles d'être

infestées (Gary et Page, 1989; Sharma et coll., 1990). L'acarien change d'hôte en se hissant au bout d'un poil du thorax et en attrapant au passage un poil d'une autre abeille se frottant à leur hôte initial (Sachs, 1952). Cela semble être leur seul mode de propagation, car ils sont incapables d'infester un nouvel hôte à partir des rayons de la ruche ou d'une fleur (Hirschfelder, 1952).

L'acarien a été découvert en Suisse par Rennie et coll. (1921) et il était probablement déjà répandu en Europe puisque qu'il a été rapidement rapporté dans des endroits éloignés du continent alors que l'apiculture migratoire et les échanges d'abeilles étaient encore très limités (Bailey et Ball, 1991). En Amérique, le parasite a été détecté pour la première fois en Argentine en 1944-1945 (Lozano et coll., 1989). Ensuite dans les années 1970 et 1980, il a été rapporté au Brésil, en Colombie, au Venezuela et au Mexique dans cet ordre (Bailey et Ball, 1991). Il a atteint le Texas en 1984 (Delfinado-Baker, 1984). Entre 1980 et 1984 des échantillons d'environ 5 000 colonies du Canada et des États-Unis ont été analysés pour détecter la présence d'*Acarapis woodi* et de *V. destructor* (nommé *V. jacobsoni* à l'époque) et aucun des acariens n'a été détecté (Shimanuki et Knox, 2000), ce qui indique que l'infestation était très faible ou absente. Cependant, dès 1985, on a observé des colonies avec des taux d'infestation très élevés dans certains ruchers de l'État de New-York (Otis et coll., 1988). L'acarien est aussi présent en Inde et en Asie du Sud-est sur les espèces *A. dorsata* et *A. cerana* (Bailey et Ball, 1991), et en Afrique sur *Apis mellifera adansonii* (Benoit, 1959). Au Québec on peut observer *A. woodi* depuis 1988, et jusqu'en 1994, on détruisait les colonies infestées pour essayer d'empêcher le parasite de se répandre. Maintenant que le parasite est répandu partout au Canada et au Québec, on tente plutôt de le contrôler avec l'acide formique, le thymol et le menthol (Boucher, 2004, communication personnelle). Il est intéressant de noter que ces trois agents de lutte ont aussi un effet acaricide sur le parasite *V. destructor* (voir section 4 « Méthodes de lutte »).

Gary et Page (1987) montré que les abeilles pouvaient être sélectionnées pour réduire leur susceptibilité à l'infestation par *A. woodi*.

## 7.2 Autres espèces d'*Acarapis*

Il existe des acariens ectoparasites des abeilles et qui sont morphologiquement très similaires à *A. woodi*. Ces acariens ont été découverts en Suisse et la première espèce a été nommée *Acarapis externus*. Plus tard, deux autres espèces se sont ajoutées, soit *Acarapis dorsalis*, qui se trouve sur le dos de son hôte et *Acarapis vagans* qui semble avoir une localisation moins spécifique sur son hôte. Aucune de ses espèces ne semble causer de torts à *A. mellifera* (Bailey et Ball, 1991).

## 7.3 *Tropilaelaps clareae*

Il existe plusieurs autres espèces d'acariens qui vivent sur les larves et les adultes des abeilles et la plupart ont été rapportées dans le Sud-est de l'Asie (Bailey et Ball, 1991). Parmi les plus connues, on retrouve *Tropilaelaps clareae*. Cet acarien se nourrit de l'hémolymphe des larves, mais il est incapable de parasiter les adultes. Il se reproduit dans le couvain et préfère le couvain de mâle (Ritter et Schneider-Ritter, 1988), rappelant un peu la biologie de *V. destructor*. Autre fait intéressant, tout comme dans le cas de *V. destructor*, il semblerait que l'abeille asiatique soit en mesure de mieux contrôler son infestation que l'abeille européenne (Bailey et Ball, 1991). Comme cet acarien ne peut survivre sans couvain et qu'il ne peut parasiter les adultes, on ne risque pas de le voir coloniser les régions nordiques, où les ruches passent des longues périodes sans couvain (Woyke, 1985). Pour l'instant, sa distribution est encore restreinte à l'Asie (Shimanuki et Knox, 2000).

## 8. Sources documentaires

Albisetti, J., Brizard, A. 1982. Notions essentielles de pathologie apicole: *vade mecum* de l'apiculteur. Office pour l'information et la documentation en apiculture, Echauffour, France: Ed. 2, 282.

Allen, M.F. Ball, B.V. 1995. Characterisation and serological relationships of strains of Kashmir bee virus. *Annals of Applied Biology* 126(3): 471-484.

Allen, M. Ball, B. 1996. The incidence and world distribution of honey bee viruses. *Bee World* 77(3): 141-162.

Alippi, A. M. Albo, G.N. Marcangeli, J. Leniz, D.Noriega, A. 1995. The mite *Varroa jacobsoni* does not transmit American foulbrood from infected to healthy colonies. *Experimental & Applied Acarology*. 19(10): 607-613.

Alippi, A.M. 1992. Detection of *Bacillus* larvae in mixed populations of bacterial spores in larval remains. *Microbiologia SEM*. 8: 115-118.

Bailey, L. 1958. The epidemiology of the infestation of the honey bee. *Apis mellifera* L., by the mite *Acarapis woodi* (Rennie), and the mortality of infested bees. *Parasitology* 48: 493-506.

Bailey, L. 1960. The epizootiology of European foulbrood of the larval honey bee, *Apis mellifera* Linnaeus. *Journal of Insect Pathology* 2: 67-83.

Bailey, L. 1975. Recent research on honeybee viruses. *Bee World* 56: 55-64.

Bailey, L. 1982. Viruses of honeybees. *Bee World* 63: 165-173.

Bailey, L., Ball, B.V. 1991. Honey Bee Pathology, 2ième édition. London. Academic Press. 193 pp.

Bailey, L. Ball, B.V. Carpenter, J.M. Woods, R. D. 1980. Small virus-like particles in honey bees associated with chronic paralysis virus and with a previously undescribed disease. *Journal of General Virology* 46: 149-155.

Bailey, L. Ball, B.V. Perry, J.N. 1983. Association of viruses with two protozoal pathogens of the honey bee. *Annals of Applied Biology* 103(1): 13-20.

Bailey, L., Lee, D.C. 1959. The effect of infestation with *Acarapis woodi* (Rennie) on the mortality of honey bees. *Journal of insect pathology* 1: 15-24.

Bailey, L. 1965. Paralysis of the honey bee, *Apis mellifera* Linnaeus. *Journal of Invertebrate Pathology* 7: 132-140.

Ball, B. V. 1989. *Varroa jacobsoni* as a virus vector. Dans: Cavalloro R. (ed.), Present status of varroa in Europe and progress in the varroa mite control. Commission of the European Communities, Udine, Italie, pp. 241-244.

Ball, B.V. 1993. The damaging effects of *Varroa jacobsoni* infestation. Dans: Matheson A. (ed.), Living with *Varroa*. IBRA, London, Cardiff, UK, pp. 9-16.

Ball, B.V. Allen, M.F. 1988. The prevalence of pathogens in honey bee (*Apis mellifera*) colonies infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*. Annals of Applied Biology 113: 237-244.

Benoit, P.L. G. 1959. The occurrence of the acarine mite, *Acarapis woodi*, in the honey-bee in the Belgian Congo. Bee World 40: 156.

Benoit, J.B., Yoder, J.A., Sammataro, D., Zettler, L.W. 2004 Mycoflora and fungal vector capacity of the parasitic mite, *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) colonies. International Journal of Acarology 30 (2): 103-106.

Bienkowska, M., Pohorecka, K., Konopacka, Z. 1996. Preliminary investigations on the relationship between varroa and chalk brood infestations in honeybee colonies. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe 40(2): 271-272.

Boucher, C. 2004. Coordonnateur du réseau-sentinelle apicole. M.A.P.A.Q., Centre québécois d'inspection des aliments et de la santé animale de Québec-Chaudières-Appalaches. Claude.boucher@agr.gouv.qc.ca

Bowen-Walker, P.L., Martin, S.J., Gunn, A. 1999. The transmission of deformed wing virus between honeybees (*Apis mellifera* L.) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. Journal of Invertebrate Pathology 73(1): 101-106.

Bradbear, N. 1988. World distribution of major honeybee diseases and pests. Bee World 69(1): 15-39.

Brizard, A., Albisetti, J. 1982. Notions essentielles de pathologie apicole, *Vade-mecum* de l'apiculteur, 2ième édition. OPIDA.

Bruce, W.A., Anderson, D.L., Calderone, N.W., Shimanuki, H. 1995. A survey for Kashmir bee virus in honey bee colonies in the United States. American Bee Journal 135(5): 352-355.

Burnside, C.E. 1930. Fungous diseases of the honeybee. U.S. Department of Agriculture Technical Bulletin 149.

Calderon, R.A., Veen, J., van Arce, H.G., Esquivel, M.E. 2003. Presence of deformed wing virus and Kashmir bee virus in Africanized honey bee colonies in Costa Rica infested with *Varroa destructor*. *Bee World* 84(3): 112-116.

Carreck, N.L., Ball, B.V., Wilson, J.K. 2001. Virus succession in honey bee colonies infested with *Varroa destructor*. Proc. 37<sup>th</sup> International. Apiculture. Congress., 28 OCT – 1 Nov, Durban, South Africa. Apimondia

Chen, Y.P., Smith, I.B., Collins, A.M., Pettis, J.S., Feldlaufer, M.F. 2004. Detection of deformed wing virus infection in honey bees, *Apis mellifera* L., in the United States. *American Bee Journal* 144(7): 557-559.

Clark, T.B. 1977. Another virus in honey bees. *American Bee Journal* 117: 340-341.

Clark, T.B. 1978. A filamentous virus of the honey bee. *Journal of Invertebrate Pathology* 32: 332-340.

Dall, D.J. 1985. Unapparent infection of honey bee pupae by Kashmir and sacbrood bee viruses in Australia. *Annals of Applied Biology* 106: 461-468.

Delfinado-Baker, M. 1984. *Acarapis woodi* in the United States. *American Bee Journal*. 124(11): 805-806.

Dreher, K. 1953. Zur Steinbrut (Aspergillusmykose) der Honigbiene [On the stonebrood of honey bee]. *Zeitschrift für Bienenforschung* 2: 92-97.

Elzen, P.J., Westervelt, D., Causey, D., Ellis, J., Hepburn, H.R., Neumann, P. 2002. Method of application of tylosin, an antibiotic for American foulbrood control, with effects on small hive beetle (*Coleoptera: Nitidulidae*) populations. *Journal of Economic Entomology*. 95(6): 1119-1122.

Furgala, B, Boch, R. 1970. The effect of Fumidil B, Nosemack, and Humatin on *Nosema apis*. *Journal of Apicultural Research* 9: 79-85.

Fyg, W. 1964. Anomalies and diseases of the queen honey bee. *Annual Review of Entomology* 9: 207-224.

Gary, N.E., Page, R.E.Jr. 1987. Phenotypic variation in susceptibility of honey bees, *Apis mellifera*, to infestation by tracheal mites, *Acarapis woodi*. *Experimental and Applied Acarology* 3(4): 291-305.

Gary, N.E., Page, R.E. 1989. Tracheal mite (Acari : Tarsonemidae) infestation effects on foraging and survivorship of honeybees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology* 82: 734-739.

Glinski, Z. 1988. The effect of *Varroa jacobsoni* Oud. on the incidence and course of chalkbrood disease in *Apis mellifera* L. colonies. Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, DD. 43(4): 23-27.

Glinski Z.F., Jarosz, J. 1990. Microorganisms associated fortuitously with *Varroa jacobsoni* Microbios. 62: 59-62

Gochnauer, T.A. 1951. Drugs fight foul brood diseases in bees. Minnesota Farm and Home Science 9: 15.

Haseman, L., Childers, L.F. 1994. Controlling American foulbrood with sulfa drugs. University of Missouri Agricultural Experiment station Bulletin 482.

Hassanein, M.H., Ibrahim, M.M., El-Banby, M.A., El-Arousy, A.F.M. 1969. Effect of different diets on some biological aspects of the lesser wax moth, *Achroia grisella* Fab. Bulletin de la société Entomologique d'Égypte 53: 567-572.

Hirschfelder, H. 1952. Das Verhalten des Tracheenmilbe *Acarapis woodi* R. beim verlassen und Aufsuchen der Wirstbienen. Zeitschrift für Bienenforschung 1: 141-170.

Jachimowicz, T., Sherbiny, G.E. 1975. Problems of invert sugar as food for honeybees. Apidologie 6(2): 121-143.

Jedruszuk, A. 2000. The influence of *V. jacobsoni* infestation on occurrence and course of sacbrood disease. Medycyna Weterynaryjna. Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, Lublin, Poland 56(10): 667-671.

Kanbar, G., Engels, W., Nicholson, G.J., Hertle, R., Winkelmann, G. 2004. Tyramine functions as a toxin in honey bee larvae during *Varroa*-transmitted infection by *Melissococcus pluton*. FEMS Microbiology Letters. 234(1): 149-154.

Katznelson, H., Arnott, J., Bland, S.E. 1952. Preliminary report on the treatment of European foulbrood of honey bees with antibiotics. Scientific Agriculture 32: 180-184.

Knox, D.A., Shimanuki, H., Caron, D.M. 1976. Ethylene oxide plus oxytetracycline for the control of American foulbrood in honey bees. Journal of Economic Entomology 40: 915.

Kulikov, N.S. 1961. Treating bees with fumagillin for nosema infection. Pchelovodstvo 1961(5): 43-44.

Kulinčević, J.M., Rothenbuhler, W.C. 1975. Selection for resistance and susceptibility to hairless-black syndrome in the honeybee. Journal of Invertebrate Pathology 25: 289-295.

Kulinčević, J.M., Rothenbuhler, W.C. 1989. The effects of artificial infection with chronic bee paralysis virus on queens from strains of honeybees resistant or susceptible to hairless-black syndrome. *Journal of Apicultural Research* 28: 79-80.

Liu, T.P. 1995. A possible control of chalkbrood and nosema diseases of the honey bee with neem. *American Bee Journal* 135(3): 195-198.

Liu, T. P., Ritter, W. 1988. Morphology of some microorganisms associated with the female mite *Varroa jacobsoni*: a survey by electron microscopy. In: Africanized honey bees and bee mites. Needham, G. R., Page, R. E., Delfinado-Baker, M, Bowman, C. E., eds., Ellis Horwood Ltd., Chichester, pp. 444 -451.

Lozano, L.G., Moffett, J.O., Campos, P.B., Guillen M., Perez E., O.N., Maki, D.L., Wilson, W.T. 1989. Tracheal mite *Acarapis woodi* (Rennie) (Acari: Tarsonemidae) infestations in the honey bee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) in Tamaulipas, Mexico. *Journal of Entomological Science* 24(1): 40-46.

Martin, S., Hogarth, A., van Breda, J., Perret, J. 1998. A scientific note on *Varroa jacobsoni* Oudemans and the collapse of *Apis mellifera* L. colonies in the United Kingdom. *Apidologie* 29: 369-370

Medina, L.M., Mejia, E.V. 1999. The presence of *Varroa jacobsoni* mite and *Ascosphaera apis* fungi in collapsing and normal honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in Yucatan, Mexico. *American Bee Journal* 139(10): 794-796.

Michael, A.S. 1964. Ethylene oxide. A fumigant for control of pests and parasites of the honey bee. *Gleanings in Bee Culture* 92: 102-104.

Moeller, F. 1967. A study of the incidence of nosema infection in overwintered colonies in Wisconsin. *Proceedings of the 21<sup>st</sup> International Apicultural Congress, Preliminary Scientific meetings, summary paper number 47.*

Morse, R.A., Laigo, F.M. 1968. *Beekeeping in the Philippines*. University of the Philippines Farm Bulletin 27.

Morse, R.A., Nowogrodzki, R. 1990. *Honey bee pests, predators, and diseases*. 2<sup>nd</sup> edition. Cornell University Press. 474 pp.

Neumann, P., Elzen P.J. 2004. The biology of the small hive beetle (*Aethina tumida*, Coleoptera: Nitidulidae): Gaps in our knowledge of an invasive species *Apidologie* 35(3): 229-247

Nielsen, R.A. Brister, C.D. 1979. Greater wax moth: behavior of larvae. *Annals of the Entomological Society of America* 72(6): 811-815.



- Nixon, M. 1982. Preliminary world maps of honeybee diseases and parasites. *Bee World* 63: 23-42.
- Nordström, S. 2003. Distribution of deformed wing virus within honey bee (*Apis mellifera*) brood cells infested with the ectoparasitic mite *Varroa destructor*. *Experimental and Applied Acarology* 29: 293-302.
- Nordström, S., Fries, I., Aarhus, A., Hansen, H., Korpela, S. 1999. Virus infections in Nordic honey bee colonies with no, low or severe *Varroa jacobsoni* infestations. *Apidologie* 30: 475-484.
- Orantes Bermejo, F.J., Garcia Fernandez, P. 1997. Nosema disease in the honey bee (*Apis mellifera* L.) infested with varroa mites in southern Spain. *Apidologie* 28(3/4): 105-112.
- Örösi-Pál, Z. 1934. Experiments on the feeding habits of the *Acarapis* mites. *Bee World* 15: 93-94.
- Otis, G.W., Bath, J.B., Randall, D.L., Grant, G.M. 1988. Studies of the honey bee tracheal mite (*Acarapis woodi*) (Acari: Tarsonemidae) during winter. *Canadian Journal of Zoology* 66(10): 2122-2127.
- Otten, C. 1994. American foul brood. Possible causes of the increased occurrence. *Biene* 130(2): 80-88.
- Park, O.W. 1936. Disease resistance and American foulbrood. *American Bee Journal* 76: 12-15.
- Pohl, F., Ritter, W. 1997. New results of two virus diseases (APV, SBV) of the honey bee. *Apidologie* 28: 174-176.
- Prandin, L., Dainese, N., Girardi, B., Damolin, O., Piro, R., Mutinelli, F. 2001. A scientific note on long-term stability of a home-made oxalic acid water sugar solution for controlling varroosis. *Apidologie* 32(5): 451-452.
- Prell, H. 1927. Beiträge zur Kenntnis der Milbenseuche der Honigbiene. *Archiv für Bienenkunde* 8: 1-33.
- Rennie, J., White, P.B., Harvey, E.J. 1921. Isle of Wight disease in hive bees. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh* 52: 737-779.
- Rinderer, T.E., Rothenbuhler, W.C., Kulinčević, J.M. 1975. Responses of three genetically different stocks of the honeybee to a virus from bees with hairless-black syndrome. *Journal of Invertebrate Pathology* 25: 297-300.

Ritter, W., Schneider-Ritter, U. 1988. Differences in biology and means of controlling *Varroa jacobsoni* and *Tropilaelaps clareae*, two novel parasitic mites of *Apis mellifera* Africanized honey bees and bee mites. Ellis Horwood, Chichester, UK: 387-395.

Romaniuk, K., Wawrzyniak, S. 1991. *Nosema apis* invasion in honey bees parasitized by the mite *Varroa jacobsoni*. Medycyna Weterynaryjna. 47(2): 62-64.

Ruzicka, F. 1991. Secondary infections with *Varroa* infestations of honey bees, especially viruses. Bienenvater 112(1): 8-9.

Rycke, P.H., de Joubert, J.J., Hosseinian, S.H., Jacobs, F.J. 2002 The possible role of *Varroa destructor* in the spreading of American foulbrood among apiaries. Experimental and Applied Acarology 27(4): 313-318.

Sachs, H. 1952. Ueber das Verhalten und die Orientierung des Tracheenmilbe *Acarapis woodi* (Rennie, 1921) auf Bienen. Zeitschrift für Bienenforschung 1: 148-170.

Sammataro, D. 1997. Report on parasitic honey bee mites and disease associations. American Bee Journal 137(4): 301-302.

Sharma, S.D., Raj, D., Sharma, O.P. 1990. Age related susceptibility of *Apis mellifera* Linnaeus to tracheal mite *Acarapis woodi* Rennie. Himachal Journal of Agricultural Research 16(1/2): 63-64.

Shimanuki, H. 1967. Ethylene oxide and control of American foulbrood: a progress report. American Bee Journal 107: 290-291.

Shimanuki, H. 1981. Controlling the greater wax moth - a pest of honey combs. U.S. Department of Agriculture Farmer's Bulletin number 2217.

Shimanuki, H., Knox, D.A. 1994. Susceptibility of *Bacillus Larvae* to Terramycin. American Bee Journal 134: 125-126.

Shimanuki, H., Knox, D.A. 2000. Diagnosis of Honey Bee Diseases. U.S. Department of agriculture, Agriculture Handbook No.AH-690, 61 pp.

Shimanuki, H., Lehnert, T., Knox, D.A., Herbert, jr.E.W. 1969. Control of European foulbrood disease of the honey bee. Journal of Economic Entomology 62: 813-814.

Sihag, R.C. 1982. Problem of the wax moth (*Galleria mellonella* L.) infestation on giant honey bee (*Apis dorsata* Fab.) colonies in Haryana. Indian Bee Journal 44: 107-109.

Singh, S. 1962. Beekeeping in India. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi.

Skou, J.P., Holm, S.N. 1980. Occurrence of melanosis and other diseases in the queen honeybee, and the risk of their transmission during instrumental insemination. *Journal of Apicultural Research* 19: 133-143.

Spivak, M., Reuter, G.S. 2001. Resistance to American foulbrood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred for hygienic behavior. *Apidologie* 32(6): 555-565.

Suazo, A.B., Torto, P.E.A., Teal, J.H., Tumlinson. 2003. Response of the small hive beetle (*Aethina tumida*) to honey bee (*Apis mellifera*) and beehive-produced volatiles. *Apidologie* 34(6): 525-533

Szabo, T.I., Walker, C.R.T. 1995. Damages to dead *Varroa jacobsoni* caused by the larvae of *Galleria mellonella*. *American Bee Journal* 135(6): 421-422.

Vecchi, M.A. 1959. La Microflora dell'ape mellifica. *Annali di Microbiologia* 9: 73-86.

Waite, R.J., Brown, M.A., Thompson, H.M., Bew, M.H. 2003. Controlling European foulbrood with the shook swarm method and oxytetracycline in the UK. *Apidologie* 34(6): 569-575.

Wang, D., Moeller, F. E. 1970. The division of labor and queen attendance behavior of nosema-infected worker honeybees. *Journal of Economic Entomology* 63: 1539-1541.

White, G.F. 1906. The bacteria of the apiary, with special reference to bee diseases. U.S. Department of Agriculture Technical Series number 14.

White, G. F. 1918. Nosema disease. U.S. Department of Agriculture, Bulletin 780.

Woyke, J. 1985. *Tropilaelaps clareae*, a serious pest of *Apis mellifera* in the tropics, but not dangerous for apiculture in temperate zones. *American Bee Journal* 125(7): 497-499.

# ACCORD ET PERMISSION DES COAUTEURS D'UN ARTICLE<sup>1</sup>

## IDENTIFICATION DE L'ÉTUDIANT

Nom de l'étudiant David Saintonge		
Sigle du programme M.Sc.	Titre du programme Sciences vétérinaires	Option Sciences Cliniques

## DESCRIPTION DE L'ARTICLE

Auteurs David Saintonge, Pierre Giovenazzo, Pascal Dubreuil	
Titre Evaluation of fluvalinate, coumaphos, thymol, oxalic acid and formic acid against <i>Varroa destructor</i> in Eastern Canada.	
Revue Veterinary Parasitology	Date de publication À Soumettre

## DECLARATION DES COAUTEURS

<b>Déclaration</b> À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, j'autorise le microfilmage du mémoire et je suis d'accord que David Saintonge inclut cet article dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre Évaluation du fluvalinate, du coumaphos, du thymol et des acides [redacted] beille au Québec.		
Coauteur Pierre Giovenazzo	[redacted]	Date 27/01/2005
Coauteur Pascal Dubreuil	[redacted]	Date 29/01/2005
Coauteur	[redacted]	Date
Coauteur	Signature	Date
Coauteur	Signature	Date
Coauteur	Signature	Date
Coauteur	Signature	Date

<sup>1</sup>Annexe II du Guide de présentation et d'évaluation des mémoires de maîtrise et des thèses de doctorat, mars 2001

